aus der Durchstechflasche verabreicht wurde, wurde als nicht akzeptabel angesehen, da keine unterstützenden Daten vorgelegt wurden. Um eine solche Änderung der Produktinformationen zu unterstützen, sollte eine Änderung eingereicht werden, um die Spezifikationsgrenzen für das extrahierbare Volumen zu aktualisieren, unterstützt durch entsprechende pharmazeutische Entwicklungsdaten, um die Angabe von 6 Dosen zu untermauern.

22. Der Inhaber der Genehmigung für das Inverkehrbringen sollte die Möglichkeiten einer Erhöhung der Temperatur bei Langzeitlagerungsbedingungen für das Endprodukt von -70 °C auf -20 °C untersuchen. Darüber hinaus sollte der Inhaber der Genehmigung für das Inverkehrbringen die Möglichkeit prüfen, die Lagerzeit im Gebrauch (vor der Verdünnung) auf 5 Tage bei 2–8 °C zu verlängern, sowie die Möglichkeiten zur Erweiterung der Angaben für Transportbedingungen bei 2–8 °C.
23. Der Inhaber der Genehmigung für das Inverkehrbringen sollte die Ergebnisse der Filtervalidierung zur Bewertung bereitstellen, sobald sie verfügbar sind.

2.3. Nichtklinische Aspekte

GLP-Inspektionen

Der Antragsteller gibt an, dass die zentralen toxikologischen Studien GLP-konform sind. Bei der Bewertung der Studie zur Toxizität bei wiederholter Gabe Nr. 38166 wurden einige Probleme in Bezug auf die Dokumentation festgestellt, die zu einer GLP-Inspektion des Studienaudits führten, die von der örtlichen deutschen GLP-Compliance-Überwachungsbehörde in der Einrichtung, in der die Studie durchgeführt wurde, im November 2020 durchgeführt wurde. Alle Antworten auf die Fragen wurden vom CHMP bestätigt. Der Antragsteller äußerte sich auch zu diesen Themen. Unter Berücksichtigung aller bereitgestellten Elemente wurden die festgestellten Probleme als gelöst betrachtet.

Im Hinblick auf die Studie zur Toxizität bei wiederholter Gabe Nr. 20GR142 wurden die einzigen größeren Bedenken, die festgestellt wurden, durch die Antworten des Antragstellers ausgeräumt, die vom CHMP als zufriedenstellend angesehen wurden.

2.3.1. Pharmakologie

Das pharmakologische Dossier basiert auf ersten Studien zur Funktionalität des RNA-basierten Produkts BNT162b2 (V9) und des kodierten SARS-CoV-2 P2 S-Proteins sowie auf unterstützenden Studien zur Struktur des SARS-CoV-2 P2 S-Proteins. Anschließend erfolgt die Charakterisierung der humoralen und zellulären Immunantwort bei Mäusen und nichtmenschlichen Primaten nach der Immunisierung mit BNT162b2 (V9) und endet mit einer SARS-CoV-2-Challenge-Studie an mit BNT162b2 (V9) immunisierten nichtmenschlichen Primaten.

Aufgrund der Beschaffenheit des RNA-basierten Impfstoffprodukts, das den geltenden Richtlinien entspricht (WHO-Richtlinie zur nichtklinischen Bewertung von Impfstoffen, WHO Technical Report Series, Nr. 927, 2005).

Wirkmechanismus

SARS-CoV-2 infiziert den Körper mithilfe des Spike-Proteins (S), das sich an spezifische Zelloberflächenrezeptoren bindet, von denen das Angiotensin-Converting-Enzym 2 (ACE2) einen wesentlichen Teil ausmachen könnte, wie kürzlich vermutet wurde. Zusätzlich zur anfänglichen Bindung an eine Wirtszelle ist das S-Protein auch für die Fusion der Virushülle mit der Wirtszellmembran verantwortlich, was zur Freisetzung des Genoms führt. Aufgrund seiner unverzichtbaren Rolle ist das S-Protein ein Hauptziel virusneutralisierender Antikörper und hat sich zu einem Schlüsselantigen für die Impfstoffentwicklung entwickelt. Durch die Immunisierung mit dem modifizierten RNA-Produkt (modRNA) BNT162b2, das für das S-Protein kodiert, soll eine starke und relativ lang anhaltende Produktion hochaffiner virusneutralisierender Antikörper ausgelöst werden, die durch Blockierung des S-Proteins und seines Rezeptors wirken können -Bindungsdomäne (RBD)-Interaktion mit Wirtszellrezeptoren, aber auch durch Opsonisierung vermittelte Virusclearance. Darüber hinaus soll die Immunisierung mit BNT162b2 auch eine begleitende T-Zell-Antwort vom Typ Th1 hervorrufen, die die B-Zellen unterstützt, die für die Produktion von S-spezifischen Antikörpern verantwortlich sind, und zytotoxische T-Zellen, die virusinfizierte Zellen abtöten.

Das S-Protein ist ein trimeres Klasse-I-Fusionsprotein, das in einer metastabilen Präfusionskonformation vorliegt, bevor es mit einer Zielzelle in Kontakt kommt. BNT162b2 kodiert für eine P2-Mutantenvariante (P2 S) von S, bei der zwei aufeinanderfolgende Prolinmutationen eingeführt wurden, um die RBD in der Präfusionskonformation zu fixieren. Darüber hinaus wird BNT162b2 durch einen Ersatz von Uridin durch 1-Methylpseudouridin nukleosidmodifiziert, wodurch seine inhärente Adjuvansaktivität, die durch die Bindung an angeborene Immunsensoren wie die Toll-like-Rezeptoren (TLRs) 7 und 8 vermittelt wird, gedämpft, aber nicht aufgehoben wird. Darüber hinaus sind die Strukturelemente der Vektorrückgrate von BNT162b2 für eine längere und starke Translation der Antigen-kodierenden RNA optimiert.

Die Wirksamkeit des RNA-Impfstoffs wird durch die Einkapselung der RNA in Lipid-Nanopartikel (LNPs) weiter optimiert, was die RNA vor dem Abbau durch RNAsen schützt und die Transfektion von Wirtszellen nach intramuskulärer (im) Verabreichung ermöglicht. Das funktionelle und ionisierbare Lipid ALC-0315 wird als primärer Treiber der Abgabe identifiziert, da es den LNPs eine neutrale Ladung in einer physiologischen Umgebung ermöglicht, um die Internalisierung zu erleichtern; die endosomale Umgebung weist eine positive Ladung auf und löst daher die Translokation von RNA in das Zytosol aus (Midoux & Pichon, 2015; Hassett et al, 2019; Patel et al, 2019); ALC-0159 ist in der Formulierung enthalten, um eine sterische Barriere bereitzustellen, um 1) die Kontrolle der Partikelgröße und Homogenität während der Herstellung und Produktlagerung zu erleichtern und 2) die Assoziation von Plasma und Proteinen mit der LNP-Oberfläche zu regulieren. Die Zusammensetzung der LNPs kann auch die Verteilung des injizierten BNT162b2 beeinflussen. Darüber hinaus kann nicht ausgeschlossen werden, dass die LNP-Zusammensetzung zur Gesamtimmunogenität beiträgt.

Die intramuskuläre Verabreichung von LNP-formulierten RNA-Impfstoffen führt zu einer vorübergehenden lokalen Entzündung, die die Rekrutierung von Neutrophilen und Antigen-präsentierenden Zellen (APCs) an der Verabreichungsstelle vorantreibt. Rekrutierte APCs sind zur LNP-Aufnahme und Proteinexpression fähig und können anschließend zu den lokalen Drainage-Lymphknoten wandern, wo die T-Zell-Primierung stattfindet. Im Allgemeinen wird die mRNA nach der Endozytose von LNPs vom Endosom in das Zytosol der Wirtszelle freigesetzt (Sahay et al., 2010; Maruggi et al., 2019). Der Prozess einer durch einen RNA-Impfstoff ausgelösten Immunantwort wurde sowohl in murinen als auch in nichtmenschlichen Primatenmodellen nachgewiesen (Pardi et al., 2015; Liang et al., 2017).

Primäre pharmakodynamische Studien

Primäre pharmakodynamische Studien in vitro

Um die Funktionalität des RNA-basierten Produkts BNT162b2 (V9) zu bestätigen, wurden die Proteinexpression, die Transfektionshäufigkeit von BNT162b2 und die Zelloberflächenexpression des SARS-CoV-2 P2 S-Proteinantigens bewertet. Die BNT162b2 (V9)-Transfektion von HEK293T-Zellen zeigte, dass SARS-CoV-2 P2 S korrekt auf der Zelloberfläche exprimiert wurde, wie durch Durchflusszytometrie-Färbung nicht permeabilisierter Zellen mit einem monoklonalen Anti-S1-Antikörper gezeigt wurde. Darüber hinaus wurde die zelluläre Lokalisierung des exprimierten S1-Proteins untersucht. Das S-Protein ist zusammen mit einem ER-Marker lokalisiert, wie durch Immunfluoreszenzexperimente in HEK293T-Zellen nachgewiesen wurde, die BNT162b2-RNA exprimieren, was darauf hindeutet, dass das S-Protein innerhalb des ER verarbeitet wird.

In einer Reihe unterstützender Studien wurde untersucht, ob BNT162b2-RNA für eine Aminosäuresequenz kodiert, die die ACE2-Bindungsstelle (RBD) authentisch exprimiert. Rekombinantes P2 S wurde aus DNA exprimiert, die für dieselbe Aminosäuresequenz kodiert wie BNT162b2-RNA. Die durchflusszytometrische Färbung mit Spike-Protein (S)-Bindungsmitteln, da menschliches ACE2 und monoklonale Antikörper bekanntermaßen an authentisches S-Protein binden, deuteten allesamt auf ein authentisch präsentiertes P2-S-Protein und eine ACE2-Bindungsstelle hin. Mithilfe der Bioschicht-Interferometrie wurde eine niedrige nanomolare Affinität der P2 S-Bindung an ACE2 PD und B38 mAb nachgewiesen.

Um das P2-Spike-Protein weiter strukturell zu charakterisieren, wurde eine Kryo-Elektronenmikroskopie-Untersuchung (KryoEM) von gereinigtem P2 S, exprimiert aus DNA, durchgeführt. Das KryoEM ergab laut

der Antragsteller, eine Partikelpopulation, die der Präfusionskonformation des SARS-CoV-2-Spike-Proteins sehr ähnlich ist. Durch Anpassen eines zuvor veröffentlichten Atommodells an einen verarbeiteten und verfeinerten KryoEM-Datensatz wurde ein neu erstelltes Modell erhalten, das eine gute Übereinstimmung mit den gemeldeten Strukturen des Präfusions-Wildtyps S in voller Länge und seiner Ektodomäne mit P2-Mutationen zeigt. Im Präfusionszustand durchlaufen die RBD scharnierartige Konformationsbewegungen und können sich entweder in einer „oben“-Position (offen für die Rezeptorbindung) oder in einer „unten“-Position (geschlossen für die Rezeptorbindung) befinden. Die dreidimensionale Klassifizierung des Datensatzes zeigte eine Klasse von Partikeln, die in der Konformation eine RBD „oben“ und zwei RBD „unten“ aufwiesen. Diese teilweise offene Konformation machte 20,4 % der trimeren Moleküle aus. Der Rest befand sich in der rein RBD-„Down“-Konformation. Obwohl wirksame neutralisierende Epitope beschrieben wurden, wenn sich das RBD in der geschlossenen Konformation „Kopf nach unten“ befindet, legt die für den Rezeptor zugängliche Konformation „Kopf nach oben“ eine potenziell größere Bandbreite an neutralisierenden Antikörperzielen frei. Daraus wird geschlossen, dass bei der Immunisierung mit dem P2 S, das für BNT162b2 kodiert, möglicherweise Antikörper sowohl für die Aufwärts- als auch für die Abwärtskonformation gebildet werden.

Primäre pharmakodynamische Studien in vivo

Die humorale und zelluläre Immunantwort nach IM-Verabreichung von BNT162b2 (V9) wurde an Mäusen und nichtmenschlichen Primaten untersucht. Die Wahl und Relevanz der Maus für pharmakologische Tiermodellstudien basierte auf dem fundierten Wissen über die Eignung, Dosierung und Immunisierungsschemata von BALB/c-Mäusen für die RNA-basierte Impfstoffentwicklung. Nichtmenschliche Primaten wurden ausgewählt, da es sich um eine höher geordnete Spezies handelt, die enger mit dem Menschen verwandt ist und möglicherweise die Immunreaktionen des Menschen besser widerspiegelt. Die Auswahl von Ratten als toxikologische Testspezies steht im Einklang mit den Leitliniendokumenten der Weltgesundheitsorganisation (WHO) zur nichtklinischen Bewertung von Impfstoffen (WHO, 2005). In den Dokumenten wird die Durchführung von Impfstofftoxizitätsstudien an einer Spezies empfohlen, die eine Immunantwort auf den Impfstoff auslöst. Die Wistar Han (WH)-Ratte entwickelte nach der BNT162b2-Impfung eine antigenspezifische Immunantwort.

Balb/c, Weibchen wurden am Tag 0 IM mit 0,2, 1 oder 5 µg RNA/Tier von BNT162b2 (V9) oder mit Puffer allein (n=8) immunisiert. An den Tagen 7, 14, 21 und 28 nach der Immunisierung wurden Blutproben entnommen. Die IgG-Antikörperantwort auf SARS-CoV-2-RBD oder S1 wurde mittels ELISA analysiert. Die Immunisierung mit BNT162b2 induzierte IgGs, die an S1 und RBD banden, wie durch ELISA nachgewiesen wurde, und am Tag 28 nach der Immunisierung eine Bindungsaffinität von KD 12 nM bzw. 0,99 nM (geometrisches Mittel) zeigten, wie durch Oberflächenplasmonresonanz nachgewiesen wurde.

Um die Antikörperantwort auf BNT162b2 und seine potenzielle Fähigkeit, SARS-CoV-2-Infektionen zu reduzieren, weiter zu charakterisieren, wurde ein Pseudovirustyp-Neutralisationsassay (pVNT) als Ersatz für die Virusneutralisation verwendet, da für Studien mit authentischem SARS-CoV-2 ein BSL3 erforderlich ist Eindämmung. Der pVNT basierte auf einem rekombinanten replikationsdefizienten Vesikulären-Stomatitis-Virus (VSV)-Vektor, der gemäß veröffentlichten Protokollen mit SARS-CoV-2 S-Protein pseudotypisiert worden war. In Seren von mit BNT162b2 immunisierten Mäusen wurde ein dosisabhängiger Anstieg der SARS-CoV-2-S-VSV-Pseudovirus-neutralisierenden Antikörper beobachtet. Am 14. Tag war der Unterschied der mit 5 µg RNA behandelten Gruppe im Vergleich zur Pufferkontrolle statistisch signifikant ($p = 0{,}0010$). An den Tagen 21 und 28 waren die Unterschiede der mit 1 µg und 5 µg BNT162b2 behandelten Gruppen im Vergleich zur Pufferkontrolle statistisch signifikant. Die Relevanz des Pseudovirus-Assays für authentisches SARS-CoV-2 wurde nicht diskutiert. Aus technischen Gründen war es nicht möglich, ein Verhältnis neutralisierender zu nicht neutralisierender Antikörper zu ermitteln.

Die Immunisierung von Mäusen mit BNT162b2 induzierte auch IFN-γ-sekretierende Zellen sowohl der CD4+- als auch der CD8+-T-Zell-Untergruppen. Dies wurde später von ELISPOT gezeigt*Ex-vivo*Restimulation von Splenozyten mit einem Sprotein-überlappenden Peptidpool am 28. Tag nach der Immunisierung. Das Zytokin-Profiling wurde auch durch Multiplex-Analyse der Zytokinfreisetzung aus den Splenozyten am 28. Tag durchgeführt. Nach der Restimulation mit S-, aber nicht mit RBD-überlappendem Peptidmix wurden hohe Konzentrationen der Th1-Zytokine IFNγ und IL-2, aber geringe Mengen der Th2-Zytokine IL-4, IL-5 und IL-13 nachgewiesen. Die viel höheren zellulären Immunreaktionen

Die gegen das S1-Protein im Vergleich zur RBD-Domäne hervorgerufenen Veränderungen könnten durch das Vorhandensein deutlich mehr T-Zell-Epitope im größeren S-Peptid-Mix voller Länge erklärt werden (zusätzlich deckt S1 die RBD-Domäne ab). Es sollte betont werden, dass die zelluläre Immunreaktivität gegen S1 viel wichtiger ist als gegen die RBD-Domäne, wo neutralisierende Antikörper für letztere wichtiger sind. Darüber hinaus wurde nach Restimulation eine erhöhte Sekretion von TNFα, GM-CSF, IL-1β, IL-12p70 und IL-18 festgestellt. Um den Immunphänotyp von B- und T-Zellen zu charakterisieren, die in Lymphknoten von mit BNT162b2 (V9) immunisierten Mäusen auftreten, wurden B- und T-Zell-Untergruppen in drainierenden Lymphknotenzellen 12 Tage nach der Immunisierung mittels Durchflusszytometrie quantifiziert. In den Proben von Mäusen, die BNT162b2 erhielten, wurde im Vergleich zu den Kontrollen eine höhere Anzahl an B-Zellen beobachtet. Dazu gehörten Plasmazellen, klassenvertauschte IgG1- und IgG2a-positive B-Zellen sowie Keimzentrums-B-Zellen. Die Anzahl der T-Zellen war erhöht, insbesondere die Anzahl der follikulären T-Helferzellen (Tfh), einschließlich Untergruppen mit ICOS-Hochregulierung, die eine wesentliche Rolle bei der Bildung von Keimzentren spielen (Hutloff 2015).

In Studien an nichtmenschlichen Primaten (Rhesusaffen) erwies sich BNT162b2 (V9) nach intramuskulärer Verabreichung als immunogen. Die Serumkonzentrationen sowohl der S1-bindenden als auch der SARS-CoV-2-neutralisierenden Antikörpertiter waren nach der BNT162b2-Immunisierung von Rhesusaffen mindestens eine Größenordnung höher als bei der Gruppe von SARS-CoV-2-Rekonvaleszenten-Menschenseren. In dieser Studie wird die Gesamtantikörperantwort mit einem Luminex-Assay gemessen und die Ergebnisse werden in U/ml ausgedrückt, und für den Neutralisationsassay werden die Ergebnisse in VNT 50 ausgedrückt.

Die Antigen-spezifische S-reaktive T-Zell-Reaktion nach der BNT162b2-Immunisierung der Makaken wurde mit ELISPOT und ICS gemessen. Während S-spezifische T-Zellen bei naiven Tieren gering bis gar nicht nachweisbar waren, wurden nach der zweiten 30- oder 100-µg-Dosis von BNT162b2 starke IFNγ-, aber minimale IL-4-ELISpot-Reaktionen festgestellt. Die intrazelluläre Färbung (ICS) bestätigte, dass die BNT162b2-Immunisierung starke S-spezifische IFNγ-produzierende T-Zell-Reaktionen hervorrief, einschließlich einer höheren Häufigkeit von CD4+-T-Zellen, die IFNγ, IL-2 oder TNF-alpha produzierten, aber einer geringeren Häufigkeit von CD4+-Zellen, die IL- produzierten. 4. Es wurde auch eine S-spezifische IFNγ-produzierende CD8+-T-Zellantwort aufgezeichnet.

Als nichtklinischer Proof of Concept (PoC) wurde eine Challenge-Studie an Rhesusaffen durchgeführt. Rhesusaffen haben eine 100-prozentige Homologie mit der menschlichen ACE2-Sequenz, die mit der RBD des S-Proteins interagiert. Mit BNT162b2 (V9) immunisierte Makaken wurden 55 Tage nach der zweiten Immunisierung mit BNT162b2 intranasal und intratracheal mit SARS-CoV-2 infiziert. Rhesusaffen wurden an den Tagen 0 und 21 immunisiert, um sie an das klinische Impfschema anzupassen. Einige andere COVID-19-Impfstoffkandidaten haben andere Prime-Boost-Intervalle, beispielsweise 4 Wochen sowohl für ChAdOx1 (Graham et al., 2020) als auch für mRNA-1273 (Corbett et al., 2020). Zum Zeitpunkt der Belastung lagen die SARS-CoV-2-Neutralisierungstiter bei den mit BNT162b2 (V9) immunisierten Tieren zwischen 260 und 1.004. Neutralisierende Titer waren bei Tieren aus der Kontrollimmunisierungs- und der Sentinel-Gruppe nicht nachweisbar. Das Vorhandensein von SARS-CoV-2-RNA wurde durch nasale und oropharyngeale (OP) Abstriche und bronchoalveoläre Lavage (BAL) überwacht. Virale RNA wurde in der BAL-Flüssigkeit von 2 der 3 kontrollimmunisierten Makaken am Tag 3 nach der Herausforderung und von einem von drei am Tag 6 nachgewiesen. Zu keinem Zeitpunkt der Probenahme wurde virale RNA in der BAL-Flüssigkeit von BNT162b2 (V9) nachgewiesen. immunisierte und mit SARS-CoV-2 infizierte Makaken. Der Unterschied beim Nachweis viraler RNA in der BAL-Flüssigkeit zwischen BNT162b2-immunisierten und kontrollimmunisierten Rhesusaffen nach der Exposition ist statistisch signifikant ($p = 0,0014$). Von kontrollimmunisierten Makaken wurde virale RNA in Nasenabstrichen nachgewiesen, die an den Tagen 1, 3 und 6 nach der SARS-CoV-2-Provokation entnommen wurden; Bei mit BNT162b2 (V9) immunisierten Makaken wurde virale RNA nur in Nasenabstrichen nachgewiesen, die am Tag 1 nach der Belastung entnommen wurden, und nicht in Abstrichen, die am Tag 3 oder danach entnommen wurden. Das Muster des viralen RNA-Nachweises aus OP-Abstrichen ähnelte dem bei Nasenabstrichen. Es wurden keine Anzeichen einer durch den Impfstoff ausgelösten Krankheitsverstärkung durch virale RNA beobachtet. Die viralen RNA-Spiegel zwischen Kontroll-immunisierten und BNT162b2-immunisierten Tieren nach der Exposition wurden durch eine nichtparametrische Analyse (Friedman-Test) verglichen und die p-Werte betragen 0,0014 für BAL-Flüssigkeit, 0,2622 für Nasenabstriche und 0,0007 für OP-Abstriche.

Trotz des Vorhandenseins viraler RNA in der BAL-Flüssigkeit von infizierten Kontrolltieren zeigte keines der infizierten oder Kontrolltiere klinische Anzeichen einer Krankheit (Gewichtsveränderung, Änderung der Körpertemperatur, Blutsauerstoffsättigung und Herzfrequenz). Der Antragsteller kam zu dem Schluss, dass das Fehlen klinischer Anzeichen bei einem der getesteten Tiere, ob immunisiert oder in der Kontrollgruppe, trotz des Vorhandenseins viraler RNA in der BAL-Flüssigkeit der getesteten Kontrolltiere darauf hindeutet, dass das 2–4 Jahre alte männliche Rhesusaffen-Challenge-Modell dies zu sein scheint ein Infektionsmodell, aber kein klinisches Krankheitsmodell. Es wurde jedoch eine weitere Untersuchung mittels Lungenröntgen und Computertomographie (CT) durchgeführt. Röntgenologische Hinweise auf eine Lungenanomalie wurden bei den belasteten Kontrollen beobachtet, jedoch nicht bei unbehandelten Wächtern oder bei den belasteten BNT162b2-immunisierten Tieren, mit Ausnahme eines CT-Score-Signals bei einem von sechs Tieren vor der Infektion und zwei von sechs am Tag 10/EOP bei BNT162b-immunisierten Tieren. Das CT-Score-Signal lag am 10. Tag/EOP auf dem gleichen Niveau wie die Kontrolle. Es wurden keine radiologischen Hinweise auf eine durch den Impfstoff hervorgerufene verstärkte Erkrankung beobachtet.

Sekundäre pharmakodynamische Studien

Mit BNT162b2 wurden keine sekundären Pharmakodynamikstudien durchgeführt, was für den CHMP akzeptabel ist.

Studien zur Sicherheitspharmakologie

Mit BNT162b2 wurden keine Sicherheitspharmakologiestudien durchgeführt. Der Antragsteller weist darauf hin, dass sie gemäß der WHO-Leitlinie (WHO, 2005) nicht als notwendig erachtet werden. Darüber hinaus wurden in den toxikologischen Studien mit wiederholter Gabe keine Erkenntnisse über lebenswichtige Organfunktionen erhoben. Daher bestätigt der CHMP, dass keine Studien zur Sicherheitspharmakologie vorliegen.

Studien zu pharmakodynamischen Arzneimittelwechselwirkungen

Mit BNT162b2 wurden keine pharmakodynamischen Arzneimittelwechselwirkungsstudien durchgeführt. Der CHMP ist damit einverstanden.

2.3.2. Pharmakokinetik

Der Antragsteller hat die Pharmakokinetik der beiden neuartigen LNP-Hilfsstoffe ALC-0315 (Aminolipid) und ALC-0159 (PEG-Lipid) in Plasma und Leber sowie deren Elimination und Metabolisierung bei Ratten bestimmt. Darüber hinaus hat der Antragsteller die Bioverteilung der beiden neuen Lipide (bei Ratten) und die Bioverteilung einer LNP-formulierten Surrogat-Luciferase-RNA bei Mäusen (IV) sowie die Bioverteilung einer [^{3}H]-markierte Lipid-Nanopartikel-mRNA-Formulierung bei Ratten (IM).

Mit dem Impfstoffkandidaten BNT162b2 wurden keine herkömmlichen Studien zur Pharmakokinetik oder Bioverteilung durchgeführt.

In der Studie PF-07302048_06Jul20_072424 hat der Antragsteller eine qualifizierte LC-MS/MS-Methode verwendet, um die Quantifizierung der beiden neuartigen LNP-Hilfsstoffe zu unterstützen. Die Bioanalysemethoden scheinen für den Einsatz in GLP-Studien ausreichend charakterisiert und validiert zu sein.

PK-Studien mit den beiden neuartigen LNP-Hilfsstoffen ALC-0315 und ALC-0159:

Wistar Han-Ratten erhielten intravenöse Bolusinjektionen mit LNP-formulierter Luciferase-kodierender RNA in einer Menge von 1 mg/kg und ALC-0315- und ALC-0159-Konzentrationen von 15,3 mg/kg bzw. 1,96 mg/kg. Die ALC-0315- und ALC-0159-Spiegel in Plasma, Leber, Urin und Fäkalien wurden mittels LC-MS/MS zu verschiedenen Zeitpunkten bis zu 2 Wochen analysiert.

ALC-0315 und ALC-0159 wurden innerhalb der ersten 24 Stunden schnell aus dem Plasma entfernt, mit einer anfänglichen t½ von 1,62 bzw. 1,72 Stunden. 24 Stunden nach der Dosierung waren weniger als 1 % der maximalen Plasmakonzentrationen vorhanden. Eine langsamere Clearance-Rate wurde nach 24 Stunden mit einer terminalen Eliminationszeit von 139 bzw. 72,7 Stunden für ALC-0315 und ALC-0159 beobachtet.

Nach der Plasmaclearance scheint die Leber das Hauptorgan zu sein, in das sich ALC-0315 und ALC-0159 verteilen. Der Antragsteller hat geschätzt, dass der Prozentsatz der an die Leber verteilten Dosis bei ALC-0315 etwa 60 % und bei ALC-0159 etwa 20 % beträgt. Die beobachtete Leberverteilung steht im Einklang mit den Beobachtungen aus der Bioverteilungsstudie und der Toxikologie bei wiederholter Gabe, beide unter intramuskulärer Verabreichung.

Für ALC-0315 (Aminolipid) wurde die maximale nachgewiesene Konzentration in der Leber (294 µg/g Leber) 3 Stunden nach der intravenösen Injektion erreicht. ALC-0315 wurde langsam aus der Leber eliminiert und nach 2 Wochen betrug die Konzentration von ALC-0315 immer noch etwa 25 % der Maximalkonzentration, was darauf hindeutet, dass ALC-0315 in etwa 6 Wochen aus der Leber der Ratte eliminiert werden würde. Für ALC-0159 (PEG-Lipid) wurde die maximale nachgewiesene Konzentration in der Leber (15,2 µg/g Leber) 30 Minuten nach der intravenösen Injektion erreicht. ALC-0159 wurde schneller aus der Leber eliminiert als ALC-0315 und nach zwei Wochen betrug die Konzentration von ALC-0159 nur ~0,04 % der maximal nachgewiesenen Konzentration. Der Antragsteller wurde gebeten, die lange Halbwertszeit von ALC-0315 und seine Wirkung, den Vergleich mit Patisiran sowie die Auswirkungen auf die Auffrischungsimpfungen und die Dauer der Empfängnisverhütung nach der Behandlung zu erörtern. Der Antragsteller vertrat die Auffassung, dass es aufgrund der Studien zur Toxizität bei wiederholter Gabe bei Dosen (auf mg/kg-Basis), die viel höher waren als bei Menschen, keine nichtklinischen Sicherheitsprobleme gab; Dies war für den CHMP akzeptabel.

Beide Patisaran-Lipide zeigten in der Klinik ein im Wesentlichen ähnliches PK-Profil mit einem stark zweiphasigen Profil und langen terminalen Halbwertszeiten. Nach Angaben des Antragstellers ist es über die Betrachtung der Dosis hinaus schwierig, die pharmakokinetischen Daten weiter zu kontextualisieren und daher die Sicherheit dieser Moleküle zu verstehen. Es besteht ein großer Dosisunterschied zwischen der menschlichen BNT162b2-Dosis und der in den Toxizitätsstudien verwendeten Dosis (300-1000x), was einen akzeptablen Sicherheitsspielraum bietet.

Darüber hinaus ist es nach Angaben des Antragstellers angesichts des großen Dosisunterschieds zwischen den Toxizitätsstudien und der klinisch wirksamen Dosis (300-1000x) unwahrscheinlich, dass die Verabreichung einer Auffrischungsdosis zu einer signifikanten Akkumulation führen wird. Schließlich ist die Antragstellerin der Ansicht, dass diese Ergebnisse keine Anforderungen an die Empfängnisverhütung rechtfertigen. Der CHMP fand diese Position akzeptabel.

Während es keine nachweisbare Ausscheidung beider Lipide im Urin gab, betrug der Prozentsatz der unverändert im Stuhl ausgeschiedenen Dosis etwa 1 % für ALC-0315 und etwa 50 % für ALC-0159.

Bioverteilung eines LNP-formulierten Luciferase-Ersatzreporters:

Um die Bioverteilung der LNP-formulierten modRNA zu bestimmen, untersuchte der Antragsteller die Verteilung der modRNA in zwei verschiedenen Nicht-GLP-Studien an Mäusen und Ratten und bestimmte die Bioverteilung einer Ersatz-Luciferase-modRNA, die mit einem LNP mit identischer Lipidzusammensetzung formuliert wurde BNT162b2 (Mausstudie) oder die Bioverteilung einer [3H]-markierten Lipid-Nanopartikel-mRNA-Formulierung (Rattenstudie).

In der Mausstudie wurden drei weibliche BALB-c-Mäuse pro Gruppe verwendet und die Expression des Luciferase-Proteins wurde bestimmt*in vivo*Biolumineszenz-Auslesungen mit einem*In vivo*Bildgebungssystem (IVIS) nach Injektion des Luciferase-Substrats Luciferin. Die Auslesungen erfolgten 6 Stunden, 24 Stunden, 48 Stunden, 72 Stunden, 6 Tage und 9 Tage nach der IM-Injektion (beabsichtigter klinischer Weg) in das rechte und linke Hinterbein mit jeweils 1 µg (insgesamt 2 µg) LNP-formulierter Luciferase-RNA.

*In vivo*Die Expression von Luciferase wurde zu unterschiedlichen Zeitpunkten an den Injektionsstellen und in der Leberregion nachgewiesen, was auf einen Abfluss in die Leber hinweist. Wie bei einem mRNA-Produkt zu erwarten war, war die Luciferase-Expression vorübergehend und nahm mit der Zeit ab. Die Luciferase-Signale an den Injektionsstellen, die höchstwahrscheinlich die Verteilung auf die Lymphknoten widerspiegeln, die die Injektionsstellen entwässern, erreichten 6 Stunden nach der Injektion ihren Höhepunkt mit Signalen von

etwa das 10.000-fache der Pufferkontrolltiere. Das Signal nahm während der ersten 72 Stunden langsam ab und nach 6 und 9 Tagen wurden die Signale weiter abgeschwächt und erreichten etwa das 18- bzw. 7-fache der Signale, die von Tieren erhalten wurden, denen Pufferkontrolle injiziert worden war.

Die Signale aus der Leberregion erreichten 6 Stunden nach der Injektion ihren Höhepunkt und sanken 48 Stunden nach der Injektion auf Hintergrundwerte ab. Die Leberexpression stützt auch die Daten aus der PK-Studie an Ratten und die Ergebnisse der toxikologischen Studie mit wiederholter Gabe an Ratten, die eine reversible Lebervakuolisierung und erhöhte γGGT-Spiegel zeigen.

Die Bioverteilung wurde auch bei Ratten mit radioaktiv markiertem LNP und Luciferase-modRNA untersucht (Studie 185350). Die radioaktiven Markierungsdaten, die die Verteilung auf Blut, Plasma und ausgewählte Gewebe der IM-Injektion einer Einzeldosis von 50 µg mRNA über einen Zeitraum von 48 Stunden messen, gelten als empfindlicher als die Biolumineszenzmethode und weisen auf ein breiteres Bioverteilungsmuster hin, als es bei der Biolumineszenz beobachtet wurde . Innerhalb von 48 Stunden erfolgte eine Verteilung von der Injektionsstelle auf die meisten Gewebe, wobei die meisten Gewebe geringe Radioaktivitätswerte aufwiesen.

Radioaktivität wurde in den meisten Geweben ab dem ersten Zeitpunkt (0,25 Stunden) nachgewiesen und die Ergebnisse belegen, dass die Injektionsstelle und die Leber die Hauptverbreitungsorte sind. Die größte mittlere Konzentration wurde zu jedem Zeitpunkt bei beiden Geschlechtern an der Injektionsstelle gefunden. In den meisten Geweben wurden geringe Radioaktivitätswerte festgestellt, wobei die höchsten Werte im Plasma 1–4 Stunden nach der Dosis beobachtet wurden. Über einen Zeitraum von 48 Stunden wurde eine Verteilung hauptsächlich in der Leber, den Nebennieren, der Milz und den Eierstöcken beobachtet, wobei maximale Konzentrationen 8–48 Stunden nach der Einnahme beobachtet wurden. Die Gesamtwiederfindung (% der injizierten Dosis) von radioaktiv markiertem LNP+modRNA außerhalb der Injektionsstelle war in der Leber am größten (bis zu 21,5 %) und war in Milz (≤ 1,1 %), Nebennieren (≤ 0,1 %) und Eierstöcken viel geringer (≤0,1 %). Die mittleren Konzentrationen und das Gewebeverteilungsmuster waren bei den Geschlechtern weitgehend ähnlich. In den Toxizitätsstudien mit wiederholter Gabe (Studie 38166 und Studie 20GR142) wurden in den Eierstöcken keine Hinweise auf impfstoffbedingte makroskopische oder mikroskopische Befunde gefunden, und in der DART-Studie wurden keine Auswirkungen auf die Fruchtbarkeit festgestellt.

Immunogenität einer LNP-formulierten Luciferase-modRNA:

Die Aktivierung des angeborenen Immunsystems nach IM-Injektion einer LNP-formulierten Luciferase-Reporter-RNA in Mäuse wurde in einem Luminex-basierten Multiplex-Assay bewertet, bei dem Serumproben (Tag -1 (vor), 6 Stunden und Tag 9) auf Spiegel von getestet wurden die folgenden Chemokine und Zytokine: MCP-1, MIP-1β, TNF-α, IFN-α, IFN-γ, IL-2, Il-6, IL-10, IL1-β, IP-10. Der Antragsteller testete drei verschiedene LNPs, die alle zusammen mit Luciferase-RNA formuliert waren. Die Ergebnisse legen nahe, dass die in BNT162b2 (LNP8) verwendete LNP-Formulierung die Konzentrationen von MCP-1, IL-6 und IP-10 6 Stunden nach der Immunisierung leicht erhöhte. Alle Chemokin-/Zytokinwerte sanken am 9. Tag auf den Hintergrundwert.

Zusätzlich zur Aktivierung des angeborenen Immunsystems war LNP-formulierte Luciferase-modRNA in der Lage, IFN-γ-T-Zell-Antworten zu induzieren (bei Belastung mit MHC I-spezifischen Luciferase-Peptid-Pools), gemessen in Splenozyten, die am Tag 9 aus den Mäusen isoliert wurden. Die LNP-formulierte Luciferase-modRNA induzierte laut ELISA-Messung nicht die Bildung von Luciferase-spezifischen IgGs.

In einer zusätzlichen hPBMC-Studie (R-20-0357) wurden insgesamt niedrige Werte proinflammatorischer Zytokine (TNF, IL-6, IFNγ, IL-1β) und niedrige oder mittlere Werte von Chemokinen (IP-10, MIP-1β) festgestellt , MCP-1) wurden bei der Untersuchung in einem explorativen Labor ausgeschieden*in vitro*Reaktogenitätstest unter Verwendung menschlicher PBMCs von drei Spendern. Es wurde beobachtet, dass IP-10, MIP-1b und MCP-1 bei den Spendern aufgrund der Transfektion antigenpräsentierender Zellen nach der Infektion erhöht waren.

Metabolismus der beiden neuartigen LNP-Hilfsstoffe ALC-0315 und ALC-0159:

Es wurden Stoffwechselstudien durchgeführt, um die beiden neuen Lipide im LNP, ALC-0315 (Aminolipid) und ALC-0159 (PEG-Lipid), zu bewerten. Mit der modRNA oder den anderen beiden Lipiden des LNP wurden keine Stoffwechselstudien durchgeführt. Insgesamt scheint es so zu sein, dass sowohl ALC-0159 als auch ALC-0315 durch Hydrolyse metabolisiert werden

Metabolismus der Amid- bzw. Esterfunktionen, und dieser hydrolytische Metabolismus wird bei allen untersuchten Spezies beobachtet.

Der Metabolismus der neuen Hilfsstoffe ALC-0159 und ALC-0315 wurde untersucht*in vitro*unter Verwendung von Blut, Leber-S9-Fraktionen und Hepatozyten, alle von Mäusen, Ratten, Affen und Menschen. Der*in vivo*Der Metabolismus wurde im Plasma, Urin, Kot und in der Leber von Ratten im Rahmen einer Pharmakokinetikstudie an Ratten untersucht, bei der eine in einem LNP formulierte Luciferase-kodierende modRNA verwendet wurde.

Der Metabolismus von ALC-0315 scheint über zwei aufeinanderfolgende Esterhydrolysereaktionen zu erfolgen, wobei zunächst der Monoester-Metabolit und anschließend der doppelt entesterte Metabolit entsteht. Der Monoester-Metabolit wurde beobachtet*in vitro*in Rattenblut, Affen-S9-Fraktion und*in vivo*in Rattenplasma und Rattenleber. Der doppelt entesterte Metabolit wurde beobachtet*in vitro*im Blut von Mäusen und Ratten; Affenleber-S9-Fraktion; Und*in vivo*in Plasma, Urin, Kot und Leber von Ratten. Die anschließende Metabolisierung des doppelt entesterten Metaboliten führte zu einem Glucuronid-Metaboliten, der nur im Urin der Pharmakokinetikstudie an Ratten beobachtet wurde. Darüber hinaus wurde 6-Hexyldecansäure, das Säureprodukt beider Hydrolysereaktionen von ALC-0315, identifiziert*in vitro*im Blut von Mäusen und Ratten; Maus-, Ratten-, Affen- und menschliche Hepatozyten; Leber-S9-Fraktionen von Mäusen, Ratten und Menschen; Und *in vivo*im Rattenplasma.

ALC-0315 war über 120 Minuten (>93 % verbleibend) in Lebermikrosomen und S9-Fraktionen und über 240 Minuten (>93 % verbleibend) in Hepatozyten aller Spezies und Testsysteme stabil.

Der primäre Stoffwechselweg von ALC-0159 scheint die Bildung einer Amidbindung durch Hydrolyse zu beinhalten*N,N*-Ditetradecylamin. Dieser Metabolit wurde im Blut von Mäusen und Ratten sowie in Hepatozyten und Leber S9 von Mäusen, Ratten, Affen und Menschen identifiziert.

ALC-0159 war über 120 Minuten (>82 % verbleibend) in Lebermikrosomen und S9-Fraktionen und über 240 Minuten (>87 % verbleibend) in Hepatozyten aller Spezies und Testsysteme stabil.

Ausscheidung der beiden neuartigen LNP-Hilfsstoffe ALC-0315 und ALC-0159:

Die Ausscheidung der beiden neuen Lipide im LNP, ALC-0315 (Aminolipid) und ALC-0159 (PEG-Lipid), wurde in der PK-Studie an Ratten untersucht. Es wurden keine Ausscheidungsstudien mit der modRNA oder den anderen beiden Lipiden des LNP durchgeführt, was vom CHMP als akzeptabel angesehen wird.

Während es keine nachweisbare Ausscheidung beider Lipide im Urin gab, betrug der Prozentsatz der unverändert im Stuhl ausgeschiedenen Dosis etwa 1 % für ALC-0315 und etwa 50 % für ALC-0159. Da nahezu kein unverändertes ALC-3015 im Urin oder im Kot nachgewiesen wurde, könnte der Stoffwechsel bei der Eliminierung von ALC-0315 eine größere Rolle spielen als bei ALC-0159.

2.3.3. Toxikologie

Das toxikologische Dossier für BNT162b2 basiert auf insgesamt drei zentralen toxikologischen experimentellen Studien; zwei Studien zur Toxizität bei wiederholter Gabe an Ratten und eine DART-Fruchtbarkeits-EFD-Studie an Ratten. Die Testsubstanz in den Studien zur Toxizität bei wiederholter Gabe ist BNT162b2 (100 µg der Variante 8 in einer Studie (Studie 38166) und 30 µg der klinisch relevanten Variante 9 in der zweiten Studie (Studie 20GR142)), die aus einer modifizierten RNA besteht in einer Lipid-Nanopartikel-Formulierung (LNP). Die Unterschiede zwischen den Varianten sind auf die Codonoptimierung zurückzuführen. Das LNP enthält vier Hilfsstoffe, von denen zwei als neu gelten (ALC-0315 und ALC-0159).

Toxizität bei wiederholter Gabe

Die beiden Toxizitätsstudien mit allgemeiner/wiederholter Gabe umfassten eine IM-Exposition von Han-Wistar-Ratten gegenüber BNT162b2 für insgesamt 17 Tage (drei wöchentliche Verabreichungen), gefolgt von einer dreiwöchigen Erholungsphase. Insgesamt ist die

Die Studiendesigns umfassten nur eine einzige Versuchsgruppe mit jeweils einer Variante von BNT162b2 (V8- oder V9-Variante), ohne Dosis-Wirkungs-Bewertung oder spezifische Versuchsgruppen für das LNP allein oder seine neuartigen Hilfsstoffe. Es wurden keine testsubstanzbedingte Mortalität oder klinische Symptome beobachtet (außer einem leichten Anstieg [<1 °C] der Körpertemperatur). Es wurden keine ophthalmologischen und auditiven Auswirkungen festgestellt. Das Tiermodell der Wahl, die Ratte, wurde im pharmakologischen Dossier nicht bewertet, im pharmakokinetischen Dossier wurde jedoch eine begrenzte Absorptions-/Verteilungsstudie durchgeführt. Die Immunogenität wurde in den toxikologischen Studien bewertet.

Körpergewicht und Nahrungsaufnahme: Die Exposition führte zu einer leichten, statistisch signifikanten Verringerung des absoluten Körpergewichts am Tag 9 (-6,8 % bis -11,3 %; BNT162b2 V8), alternativ zu einer schwachen Verringerung der Körpergewichtszunahme [BNT162b2 v9]. Es wurden keine Veränderungen in der Nahrungsaufnahme beobachtet.

Grobe Pathologie und Organgewichte: Bei 100 µg BNT162b2 V8 und 30 µg BNT162b2 V9 war das Gewebe an der Injektionsstelle am Ende der Exposition auf reversible Weise verdickt/vergrößert und hatte Ödeme und Erytheme. Die Milz war bei beiden Impfstoffvarianten und -dosen um bis zu 60 % vergrößert (reversibel). Außerdem kam es bei 100 µg zu einer Vergrößerung der abführenden und inguinalen Lymphknoten (BNT162b2 V8). Insgesamt gab es Anzeichen einer signifikanten Immunantwort, die wahrscheinlich mit der Testsubstanz zusammenhängt. Es gab eine Tendenz zu einer leicht vergrößerten Leber bei Frauen bei 100 µg (BNT162b2 V8), jedoch nicht bei 30 µg (BNT162b2 V9).

Histopathologie: Bei 100 µg BNT162b2 V8 wurden verschiedene Entzündungszeichen an der Injektionsstelle beobachtet (z. B. Fibrose, Muskelfaserdegeneration, Ödeme, Unterhautentzündung und Epidermishyperplasie). Außerdem kam es bei den meisten Ratten am Tag 17 zu einer Entzündung des perineuralen Gewebes des Ischiasnervs und des umgebenden Knochens. Das Knochenmark zeigte eine erhöhte Zellularität und die Lymphknoten zeigten Plasmozytose, Entzündung und erhöhte Zellularität. Die Milz zeigte bei der Hälfte der Tiere am Tag 17 eine erhöhte Hämatopoese. Die Leber zeigte am Tag 17 eine hepatozelluläre periportale Vakuolisierung (die sich während der Erholung vollständig umkehrte), was möglicherweise mit der hepatischen Clearance von ALC0315 zusammenhängt. Die histopathologische Untersuchung von 30 µg BNT162b2 V9 ergab ähnliche Ergebnisse wie 100 µg BNT162b2 V8, allerdings nicht auf einem so umfassenden Niveau (möglicherweise aufgrund einer geringeren Dosis). An der Injektionsstelle wurden minimale bis mäßige Entzündungen und Ödeme beobachtet (normalerweise nach ca. 3 Tagen abgeklungen). Am Tag 17 kam es zu einer minimalen bis mäßigen Erhöhung der Zellularität der Plasmazellen in den Lymphknoten und des Keimzentrums sowie der Zellularität der hämatopoetischen Zellen in der Milz (reversibel am Ende der Genesung). Es gab eine minimale Zunahme der Zellularität im Knochenmark. Es wurde auch eine reversible Vakuolisierung in der Leber beobachtet.

Der Antragsteller erklärte, dass in beiden Schlüsselstudien eine periportale Lebervakuolisierung beobachtet wurde, die jedoch weder mit mikroskopischen Hinweisen auf Leber-/Gallenschäden bei Tieren (Zellhypertrophie, Entzündung) noch mit klinischen Daten aus der Phase-1-Studie zusammenhängt. Der Antragsteller geht davon aus, dass Vakuolen auf die Akkumulation von ALC-0315 in der Leber und nicht auf PEG zurückzuführen sind.

Ein neuer Befund bei 30 µg war eine minimale extrakapsuläre Entzündung in den Gelenken am Tag 17.

Darüber hinaus wurde in der Studie 20GR142 ein Anstieg der Neutrophilen, Monozyten, Eosinophilen und Basophilen beobachtet. Für den Antragsteller standen die in der Studie 20GR142 beobachteten Anstiege der Neutrophilen, Monozyten, Eosinophilen und Basophilen mit der Entzündungs-/Immunreaktion auf die Verabreichung von BNT162b2 in Zusammenhang. Ähnliche Ergebnisse wurden auch in Studie 38166 bei Tieren festgestellt, denen 100 µg BNT162b2 verabreicht wurde. Der Antragsteller gab an, dass die Zunahme der Eosinophilen und Basophilen ein untergeordneter Bestandteil des entzündlichen Leukogramms sei, das von der Zunahme der Neutrophilen dominiert werde. Der Antragsteller teilte außerdem mit, dass keine Charakterisierung großer ungefärbter Zellen durchgeführt wurde, da die Identifizierung dieser Zellen keine zusätzlichen Informationen lieferte. Der CHMP fand dies angenehm.

Immunogenität: Die Behandlung von Ratten mit 100 ug BNT162b2 V8 erzeugte neutralisierende SARS-CoV-2-Titer (basierend auf einem auf dem vesikulären Stomatitis-Virus (VSV) basierenden Pseudovirus-Neutralisationstest) und IgG-Antikörper gegen das S1-Fragment und das RBD (basierend auf ELISA) im Serum Proben. Behandlung von

Ratten mit 30 µg BNT162b2 V9 erzeugten neutralisierende SARS-CoV-2-Antikörper (kein Pseudovirus-Neutralisierungstest).

Hämatologie: Bei 30 µg BNT162b2 V9 und 100 µg BNT162b2 V8 kam es zu einer mäßigen bis starken Reduzierung der Retikulozyten (48–74 %, nicht angegeben für V9), verbunden mit verringerten Parametern für die Erythrozytenmasse (RBC, HGB und HCT). Es gab einen mäßigen bis starken Anstieg (>100 %) bei großen, nicht klassifizierten Zellen (LUC), Neutrophilen, Eosinophilen, Basophilen und Fibrinogen, der möglicherweise mit der Entzündungs-/Immunreaktion zusammenhängt. Die Veränderungen waren reversibel. Bei V8 wurden keine Auswirkungen auf die Gerinnung beobachtet, wohingegen bei V8 und V9 ein leichter Anstieg des Fibrinogens beobachtet wurde.

Klinische Pathologie: Ein sehr starker, aber reversibler Anstieg (>100 %) der proinflammatorischen Akute-Phase-Proteine im Blut (A1AGP, A2M) wurde sowohl bei 30 µg BNT162b2 V9 als auch bei 100 µg BNT162b2 V8 beobachtet. Außerdem wurde bei beiden Varianten ein leicht bis mäßig verringertes Albumin/Globulin-Verhältnis beobachtet, das auf eine entzündungsfördernde Wirkung hinweist. Die V8-Exposition (100 ug) führte zu erhöhten γGT-Spiegeln (>200 %), einer erhöhten γGT-Enzymaktivität und erhöhten AST-Spiegeln (+ ~19 %). Die V9-Exposition (30 ug) führte zu einem leichten bis mäßigen Anstieg der AST- und ALP-Werte (+20–100 %), was möglicherweise auf Lebereffekte hinweist, jedoch zu keinen Veränderungen der γGT-Werte. Es gab keine Veränderungen der Zytokinspiegel (IFNγ, TNFalpha, Il-1b, Il6, Il-10) nach 100 µg V8-Exposition (nicht gemessen für V9). Bei 100 µg V8 wurden keine Veränderungen im Urin gemessen, während es bei 30 µg V9 zu einer leichten bis moderaten Senkung des pH-Werts kam.

Gentoxizität

Es liegen keine Genotoxizitätsstudien vor. Dies ist akzeptabel, da es sich bei den Bestandteilen der Impfstoffformulierung um Lipide und RNA handelt, von denen nicht erwartet wird, dass sie ein genotoxisches Potenzial haben.

Der neuartige Hilfsstoff ALC-0159 enthält eine potenzielle Acetamid-Einheit. Die vom Antragsteller durchgeführte Risikobewertung weist darauf hin, dass das Risiko einer Genotoxizität in Bezug auf diesen Hilfsstoff sehr gering ist, basierend auf Literaturdaten, in denen die Genotoxizität von Acetamid mit hohen Dosen und chronischer Verabreichung (≥ 1000 mg/kg/Tag) verbunden ist. Da die Menge des ALC-0159-Hilfsstoffs im Endprodukt gering ist (50 µg/Dosis), seine Clearance hoch ist und nur zwei Verabreichungen des Produkts für den Menschen empfohlen werden, wird erwartet, dass das Genotoxizitätsrisiko sehr gering ist.

Reproduktionstoxizität

In der DART-Studie wurden als Testsubstanzen BNT162b1, BNT162b2 und BNT162b3 verwendet, die weiblichen Ratten zweimal vor Beginn der Paarung und zweimal während der Trächtigkeit in der menschlichen klinischen Dosis (30 µg RNA/Dosierungstag) verabreicht wurden. Die Testsubstanzen wurden weiblichen F0-Wistar-Ratten 21 und 14 Tage vor Beginn der Paarung (M-21 bzw. M-14) und dann am Gestationstag (GD) 9 und GD20 insgesamt intramuskulär (IM) verabreicht 4 Dosen. Eine Untergruppe wurde bei GD21 und eine andere (Wurf-)Gruppe bei PND21 beendet. SARS-CoV-2-neutralisierende Antikörpertiter wurden bei der Mehrzahl der Weibchen kurz vor der Paarung (M-14), bei den meisten Weibchen und Föten am Ende der Trächtigkeit (GD21) und bei den meisten Nachkommen am Ende der Laktation (PND21) gefunden). Nach jeder Dosis kam es vorübergehend zu einer verringerten Körpergewichtszunahme und Nahrungsaufnahme. Es wurden keine Auswirkungen auf den Brunstzyklus oder den Fruchtbarkeitsindex beobachtet. Es gab einen Anstieg (~2x) des Präimplantationsverlusts (9,77 % im Vergleich zur Kontrolle 4,09 %), obwohl dieser innerhalb des historischen Kontrolldatenbereichs (5,1 %–11,5 %) lag. Bei den Feten (von insgesamt n = 21 Muttertieren/Würfen) gab es eine sehr geringe Inzidenz von Gastroschisis, Mund-/Kieferfehlbildungen, rechtsseitigem Aortenbogen und Anomalien der Halswirbel, obwohl diese Befunde innerhalb der historischen Kontrolldaten lagen. Bezüglich der Skelettbefunde hatte die exponierte Gruppe mit der Kontrollgruppe vergleichbare Werte an präsakralen Wirbelbögen, überzähligen Lendenrippen, überzähligen kurzen Lendenrippen und einer Anzahl von Schwanzwirbeln < 5). Es gab keine Anzeichen für nachteilige Auswirkungen auf die postnatale Schwangerschaft

Welpen (beendet bei PND21). Es wird darauf hingewiesen, dass derzeit keine Daten zur Plazentaübertragung von BNT162b2 vorliegen. Diese Informationen sind in Abschnitt 5.3 der Fachinformation enthalten.

Lokale Toleranz

Es wurden keine speziellen lokalen Verträglichkeitsstudien durchgeführt; Die Beurteilung der lokalen Verträglichkeit wurde jedoch in Studien zur Toxizität bei wiederholter Gabe durchgeführt. Bei 100 µg BNT162b2 V8 kam es meist zu leichten bis mittelschweren Ödemen, in einigen Fällen jedoch zu schweren Ödemen. Der Schweregrad nahm mit der 2. und 3. Injektion zu. Die Daten für die Exposition gegenüber 30 µg BNT162b2 V9 deuteten auf weniger schwerwiegende, aber ähnliche Auswirkungen hin.

2.3.4. Ökotoxizität/Umweltrisikobewertung

Gemäß der CHMP-Leitlinie zur Umweltrisikobewertung von Arzneimitteln für den menschlichen Gebrauch (EMEA/CHMP/SWP/4447100 Corr 2) ist es unwahrscheinlich, dass Impfstoffe und Lipide aufgrund ihrer Natur ein erhebliches Risiko für die Umwelt darstellen. Daher werden in diesem Zulassungsantrag, der als akzeptabel angesehen wird, keine Studien zur Umweltrisikobewertung bereitgestellt.

2.3.5. Diskussion über nichtklinische Aspekte

Pharmakologie

Das vorgeschlagene Arzneimittel besteht aus einer modRNA, die mit funktionellen und strukturellen Lipiden formuliert ist, die Lipid-Nanopartikel (LNPs) bilden. Letztere haben den Zweck, die modRNA vor Abbau zu schützen und die Transfektion der modRNA in Wirtszellen nach IM-Injektion zu ermöglichen. Die Zusammensetzung der LNPs beeinflusst wahrscheinlich die Verteilung des injizierten BNT162b2. Darüber hinaus kann nicht ausgeschlossen werden, dass die LNP-Zusammensetzung zur Gesamtimmunogenität beiträgt (siehe auch Toxikologie unten).

Die allgemeine immunaktivierende Wirkungsweise von LNP-formulierten RNA-Impfstoffen wurde in der Literatur beschrieben. Die Verabreichung von LNP-formulierter RNA führt zu einer vorübergehenden lokalen Entzündung, die die Rekrutierung von Neutrophilen und Antigen-präsentierenden Zellen (APCs) an der Abgabestelle vorantreibt. Rekrutierte APCs sind zur LNP-Aufnahme und Proteinexpression fähig und können anschließend zu den lokalen Drainage-Lymphknoten wandern, wo die T-Zell-Primierung stattfindet. Im Allgemeinen wird die mRNA nach der Endozytose von LNPs vom Endosom in das Zytosol der Wirtszelle freigesetzt (Sahay et al., 2010; Maruggi et al., 2019). Der Prozess einer durch einen RNA-Impfstoff ausgelösten Immunantwort wurde sowohl in murinen als auch in nichtmenschlichen Primatenmodellen nachgewiesen (Pardi et al., 2015; Liang et al., 2017).

Ob andere Zellen als professionelle APCs vorübergehend das vom Impfstoff abgeleitete Spike-Protein exprimieren und daher theoretisch im Vergleich zu SARS-CoV-2-infizierten Zellen möglicherweise auch Ziele für zuvor vorbereitete Spike-Protein-reaktive zytotoxische T-Zellen sein könnten, wenn vorhanden, ist nicht bekannt. Allerdings wurden in der Studie zur Toxizität bei wiederholter Gabe oder in den klinischen Studien keine offensichtlichen Anzeichen solcher unerwünschten pharmakologischen Reaktionen festgestellt. In der klinischen Studie wurde eine zweite Dosis an Patienten verabreicht, die durch die erste Dosis immunologisch vorbereitet worden waren. Darüber hinaus wurde in den klinischen Studien festgestellt, dass etwa 270 Patienten vor der Impfung seropositiv für SARS-COV-2 waren. In diesen Fällen erfolgte die Expression des Spike-Proteins auf Wirtszellen in Gegenwart einer vorbereiteten Immunantwort auf das Spike-Protein, es wurde jedoch keine offensichtliche nachteilige pharmakologische Reaktion beobachtet. Die geringe Menge des Impfstoffprodukts in einer Einzeldosis kann die Verteilung von modRNA/LNP hauptsächlich auf die Injektionsstelle und auf migrierende APCs beschränken. Aufgrund der vorübergehenden Expression der modRNA ist keine dauerhafte Expression zu erwarten.

Bezüglich der strukturellen und biophysikalischen Charakterisierung der modRNA zeigt eine schematische Beschreibung, dass 5 verschiedene Sequenzen im BNT162b2 enthalten sind, von denen zwei kodierende Sequenzen sind.

Was die Proteinexpression der V8- und V9-Varianten betrifft, so wurden bei Tieren mit beiden Varianten (bei Mäusen und Ratten) spezifische Immunantworten (Gesamt-IgG-bindender Antikörper + neutralisierender Antikörper) in signifikanter Höhe gegen das Spike-S-Protein erhalten, was auf die Effizienz von hindeutet Die*in vivo*Expression des Spike S-Proteins. Eine zusätzliche Studie wurde vorgelegt (R-20-0360), die dies weiter beweist*in vitro*Proteinexpression. Transfektionseffizienz, Expressionsrate und zelluläre Lebensfähigkeit wurden in HEK293T-Zellen nach Transfektion mit verschiedenen Konstrukten (saRNA, uRNA, modRNA V8 und V9) analysiert. HEK293T-Zellen wurden sowohl von modRNA V8 als auch von modRNA V9 effizient transfiziert, wobei die Transfektionsrate für V9 höher war, die Expressionsrate von V8 und V9 jedoch recht ähnlich war.

Obwohl ein Teil der strukturellen und biophysikalischen Charakterisierung von P2 S als Impfstoffantigen bereitgestellt wurde, wurde es in unterstützenden Studien untersucht, die auf von DNA exprimiertem P2S und nicht auf der Produkt-modRNA basierten. Auch wenn es für die Beurteilung in diesem Verfahren nicht als von entscheidender Bedeutung angesehen wird, liefert es dennoch ein wissenschaftliches Verständnis, das die nichtklinischen Schlüsselstudien zur humoralen und zellulären Immunantwort, einschließlich SARS-CoV-2-neutralisierender Antikörper, sowie SARS-CoV unterstützt -2 Herausforderung nichtklinischer PoC.

In-vivo-Pharmakodynamik: Die humorale und zelluläre Immunantwort nach IM-Verabreichung von BNT162b2 (V9) wurde an Mäusen und nichtmenschlichen Primaten untersucht und basierte auf fundierten Kenntnissen über die Eignung, Dosierung und Immunisierungsschemata von BALB/c-Mäusen für die RNA-basierte Impfstoffentwicklung . Nichtmenschliche Primaten wurden ausgewählt, da es sich um eine höher geordnete Spezies handelt, die enger mit dem Menschen verwandt ist und möglicherweise die Immunreaktionen des Menschen besser widerspiegelt. Dies wird akzeptiert, es wurde jedoch keine eingehendere Diskussion über die Eignung dieser pharmakologischen Tiermodelle geführt (z. B. Anfälligkeit für eine SARS-CoV-2-Infektion und Ähnlichkeit mit der COVID-19-Erkrankung; potenzielle Verzerrung für Th1- oder Th2-verzerrte Reaktionen). für bestimmte Mäusestämme gut charakterisiert). Bei Mäusen wurde nur eine Einzelimmunisierung durchgeführt, im Vergleich zum klinischen 2-Dosen-Regime, das ausreichend war, da nur die Charakterisierung der Immunantwort, aber keine Challenge-Studie bei Mäusen durchgeführt wurde. Auch der Induktion von Langzeitgedächtnisreaktionen sowie der Immunogenität und dem Schutz bei älteren Tieren wurde keine oder nur begrenzte Aufmerksamkeit geschenkt. Allerdings deutete die Induktion virusneutralisierender Antikörper sowohl bei Mäusen (VSV-SARS-CoV-2 S) als auch bei Primaten (SARS-CoV-2) darauf hin, dass die BNT162b2-Immunisierung das Potenzial hat, neutralisierende Antikörper auch beim Menschen zu induzieren. Daher wird erwartet, dass die Impfung mit modRNA robuste neutralisierende Antikörper und eine damit einhergehende T-Zell-Antwort induziert, um eine schützende Immunität zu erreichen.

Bei Mäusen wurde die Immunantwort nur durch Einzelimmunisierung beurteilt. Betrachtet man die Phänotypisierung von B- und T-Zellen insgesamt, deuten die Daten auf eine gleichzeitige Induktion von SARS-CoV-2 S-spezifischen neutralisierenden Antikörpertitern und einer Th1-gesteuerten T-Zell-Antwort durch Immunisierung mit BNT162b2 hin (dies wurde auch bei nichtmenschlichen Primaten beobachtet).).

In Bezug auf die Studien an nichtmenschlichen Primaten (Rhesusaffen) betrachtet der Antragsteller das menschliche Rekonvaleszenzserum-Panel als bewertbaren Maßstab für die Beurteilung der Qualität der Immunantwort auf den Impfstoff; Dies wird vom CHMP akzeptiert.

Bezüglich der Charakterisierung der T-Zell-Reaktionen schlägt der Antragsteller die S-spezifischen IFNγ-produzierenden T-Zell-Reaktionen vor, einschließlich einer hohen Häufigkeit von CD4+-T-Zellen, die IFNγ, IL-2 oder TNF-α produzierten, aber einer geringen Häufigkeit von CD4+-Zellen, die IFNγ, IL-2 oder TNF-α produzierten IL-4 produzieren, weist darauf hin, dass nach der BNT162b2 (V9)-Immunisierung eine Th1-verzerrte Reaktion auftrat. Diese Argumentation erscheint dem CHMP akzeptabel. Die Rolle einer solchen Th1-abhängigen Reaktion wurde im Zusammenhang mit antigenspezifischen T-Zell-Antworten gesehen, die eine wichtige Rolle bei der Erzeugung einer antigenspezifischen Antikörperantwort sowie bei der Eliminierung infizierter Zellen spielen, um einen Schutz vor Krankheiten zu vermitteln.

Als immunisierte Makaken mit SARS-CoV-2 infiziert wurden, wurde ein klarer und statistisch signifikanter Effekt auf die verringerte Präsenz viraler RNA in bronchoalveolären Lavage- (BAL) und oropharyngealen (OP) Abstrichen beobachtet. Ein deutlicher Effekt konnte auch durch eine verblindete Röntgenbeurteilung der Lunge festgestellt werden. A

Die schützende Wirkung zeigt sich auch im CT-Score am dritten Tag nach der Belastung, allerdings gab es am Tag 10/EOP bei zwei von sechs mit BNT162b immunisierten Affen ein CT-Signal in derselben Stärke wie in der Kontrollgruppe. Dieses Signal ist von unklarer Bedeutung, da auch bei einem von sechs vor der Infektion mit BNT162b immunisierten Tieren ein ähnliches CT-Score-Signal beobachtet wurde. Während dieses Zeitraums nahm die SARS-CoV-2-neutralisierende GMT in den mit BNT162b2 immunisierten Rhesusaffen weiter ab, blieb jedoch über der GMT eines menschlichen Rekonvaleszenzserum-Panels.

Zum Abschluss der präklinischen Pharmakologie unterstützen die vorgelegten Daten, darunter Immunogenität, Auslösung neutralisierender Antikörper und Th1-Reaktion und verringertes Vorhandensein viraler RNA bei infizierten Tieren sowie radiologische Lungenparameter, den Impfansatz. Aufgrund der Artenunterschiede im Immunsystem zwischen tierischen Modellarten und Menschen muss die Schlussfolgerung, ob dieser Impfstoffkandidat beim Menschen ausreichend wirksam sein wird, in klinischen Studien geklärt werden.

Pharmakokinetik

Pharmakokinetik (in Bezug auf die beiden neuen LNP-Hilfsstoffe): Die beiden neuartigen Lipidhilfsstoffe spielen in der Formulierung unterschiedliche Rollen und weisen unterschiedliche Pharmakokinetiken auf. Es ist erwähnenswert, dass es sich bei dem Lipid, das in der Leber über einen längeren Zeitraum eine anhaltende Kinetik zeigt, um ALC-0315 handelt.

ALC-0159 besteht aus einer Kopfgruppe aus Polyethylenglykol (PEG) (~2000 M.Wt.), die an hydrophobe Kohlenstoffketten (dh den Lipidanker) gebunden ist. ALC-0159 liegt in BNT162 im Vergleich zu den anderen Lipiden in einem geringen Mol-% (<2 Mol-%) und damit geringen Anteil vor. PEGyliertes Lipid kann nach der Verabreichung aus dem LNP ausgetauscht werden, wodurch die gewünschte Bindung endogener Proteine (z. B. Apolipoprotein E) ermöglicht und die sterische Barriere entfernt wird, die andernfalls die Wechselwirkungen des LNP mit Zielzellen und -proteinen einschränken würde.

ALC-0315 ist ein ionisierbares Aminolipid in BNT162b2 und die wichtigste Lipidkomponente für die effiziente Selbstorganisation und Einkapselung der mRNA innerhalb des LNP sowie für die erfolgreiche Bereitstellung der mRNA in Zielzellen.

Das PEG-Lipid (ALC-0159) ist darauf ausgelegt, nach der Verabreichung und vor der Aufnahme in die Zielzellen weitgehend aus dem LNP auszutauschen, wohingegen das Aminolipid (ALC-0315) für die effiziente intrazelluläre Abgabe der mRNA durch endosomale Aufnahme und Freisetzung von entscheidender Bedeutung ist und muss beim LNP verbleiben.

ALC-0159 ist viel hydrophiler, was zum großen Teil auf das Vorhandensein des PEG-Moleküls zurückzuführen ist, von dem bekannt ist, dass es ein stark hydrophiles Molekül ist (Ma et al., 1990). Aufgrund der hydrophileren und im Wesentlichen neutralen Natur dieses Moleküls hat ALC-0159 eine viel geringere Affinität zu Geweben und im Vergleich zu ALC-0315 steht eine freiere Verbindung für die Umverteilung vom Gewebe zum Plasma zur Verfügung; Daher erfolgt die Eliminierung schneller.

Der Antragsteller wies darauf hin, dass im Verlauf der zweiwöchigen pharmakokinetischen Studie die Leberkonzentrationen von ALC-0315 um das Vierfache ihres Maximalwerts abfielen, was darauf hindeutet, dass 75 % des an die Leber abgegebenen Materials in diesem zweiwöchigen Zeitraum ausgeschieden wurden.

ALC-0315 hat keine bekannte Biologie. In Ermangelung dieser „biologischen Relevanz" schätzte der Antragsteller die Ausscheidung von ALC-0315 auf >95 %, um die wesentliche Ausscheidung aus dem Körper darzustellen. Die Eliminationshalbwertszeit von ALC-0315 in der Leber nach intravenöser Verabreichung bei Ratten beträgt etwa 6–8 Tage. Diese Daten deuten darauf hin, dass eine 95-prozentige Eliminierung von ALC-0315 etwa nach ca. 30–40 Tage nach der letzten Verabreichung an die Ratte.

Basierend auf dem Verständnis des Prozesses, der an der terminalen Halbwertszeit, der Umverteilung aus den Geweben, in die das Lipid-Nanopartikel abgegeben wird, beteiligt ist, wird eine ähnliche Halbwertszeit und Zeit bis zur 95-prozentigen Elimination beim Menschen erwartet (Mahmood et al., 2010). Die Untersuchung der Skalierung der vergleichbaren Lipide (PEG2000-C-DMG, DLin-MC3-DMA) in Patisiran zeigt, dass die Halbwertszeit dieser Lipide mit einem Wert zu skalieren scheint, der sich dem typischerweise verwendeten Exponenten für die Halbwertszeit (0,25) annähert. . Wenn dies bei ALC-0315 der Fall ist, können wir das tun

Erwarten Sie beim Menschen eine Halbwertszeit von etwa 20–30 Tagen für ALC-0315 und 4–5 Monate für eine 95-prozentige Eliminierung des Lipids (Mahmood et al., 2010).

Beide Lipide zeigten in der Klinik ein im Wesentlichen ähnliches PK-Profil mit einem stark zweiphasigen Profil und langen terminalen Halbwertszeiten.

Angesichts des großen Dosisunterschieds zwischen den Toxizitätsstudien und der klinisch wirksamen Dosis (300-1000x) ist es unwahrscheinlich, dass die Verabreichung einer Auffrischungsdosis zu einer signifikanten Akkumulation führt. Dies wird vom CHMP zur Kenntnis genommen.

*Bioverteilung:*Mehrere Literaturberichte weisen darauf hin, dass sich LNP-formulierte RNAs eher unspezifisch in mehreren Organen wie Milz, Herz, Niere, Lunge und Gehirn verteilen können.

Dementsprechend deuten die Ergebnisse der neu übermittelten Studie 185350 auf ein breiteres Bioverteilungsmuster mit geringer und messbarer Radioaktivität in den Eierstöcken und Hoden hin. Da in den DART-Daten derzeit keine Toxizität vorliegt, in den Studien mit wiederholter Gabe keine toxikologischen Befunde in den Gonaden festgestellt wurden und die Radioaktivität in den Gonaden gering war (unter 0,1 % der Gesamtdosis), geben die aktuellen Daten keinen Hinweis darauf Es handelt sich um ein Sicherheitsrisiko. Die relativ hohe Dosis, die bei Ratten angewendet wurde (500-fache Differenz zur menschlichen Dosis basierend auf dem Gewicht), unterstützt auch ein geringes Risiko einer Verteilung auf die Gonaden beim Menschen.

Es wird nicht erwartet, dass die RNA-Stabilität und -Kinetik für alle RNAs gleich ist und durch die Nukleoside der RNA beeinflusst wird, obwohl erwartet wird, dass die Expression des Spike-Proteins (S) in voller Länge einer ähnlichen Kinetik wie die der Luciferase mit einem Transienten folgt Wenn die Expression mit der Zeit nachlässt, kann nicht ausgeschlossen werden, dass Unterschiede in der Stabilität/Persistenz des Signals zwischen dem Luciferase-Protein und dem Spike (S)-Protein unterschiedlich sein könnten.

In einer zusätzlichen hPBMC-Studie (R-20-0357) wurden niedrige Werte proinflammatorischer Zytokine (TNF, IL-6, IFNγ, IL-1β) und niedrige oder mittlere Werte von Chemokinen (IP-10, MIP-1β, MCP) festgestellt -1) wurden bei der Untersuchung in einem Exploratorium abgesondert*in vitro*Reaktogenitätstest unter Verwendung menschlicher PBMCs von drei Spendern. Der Antragsteller betont, dass angesichts der Variabilität zwischen den Spendern und der geringen Anzahl von Spendern im Experiment kein spezifischer allgemeiner Trend bei der Zytokinsekretion beobachtet werden kann.

Toxikologie

Obwohl keine umfassende pharmakologische Bewertung bei Ratten durchgeführt wurde (nur bei Mäusen und nichtmenschlichen Primaten), wurde die Ratte als toxikologisches Tiermodell in den Studien zur Toxizität bei wiederholter Gabe verwendet. Die positiven Ergebnisse des Neutralisationstests in den Studien zur Toxizität bei wiederholter Gabe zeigen, dass V8 und V9 bei dieser Spezies eine Immunantwort hervorrufen (d. h. SARS-CoV-2-Antikörper), was teilweise die Verwendung der Ratte als Tiermodell unterstützt. Andere SARS-CoV-2-Immunreaktionen bei Ratten bleiben unklar. Die Immunreaktionen, insbesondere an den Injektionsstellen (z. B. Ödeme, Erytheme), scheinen in den Studien mit jeder Injektion zuzunehmen (n=3). Es gab einen deutlichen Anstieg der Akute-Phase-Proteine, von Fibrinogen und ein verringertes Albumin-Globulin-Verhältnis (jedoch kein Anstieg der Zytokine bei V8, unklar für V9). Es gab auch einen allgemeinen Anstieg der Immunzellen (LUC, Neutrophile, Eosinophile, Basophile) und eine Abnahme der Parameter der roten Blutkörperchen (Retikulozyten, RGB, HGB, HCT). Die Milz war sowohl bei 30 µg V9 als auch bei 100 µg V9 vergrößert und die abführenden und inguinalen Lymphknoten waren größtenteils bei 100 µg (V8), bei einigen wenigen Tieren jedoch auch bei 30 µg (V9) vergrößert.

Die systemische Komplementaktivierung (die manchmal durch liposomale Arzneimittel und Biologika induziert werden kann und möglicherweise zu Überempfindlichkeitsreaktionen führt) wurde nicht untersucht, da keine Anzeichen für solche klinischen Manifestationen festgestellt wurden. Das Fehlen von Dosis-Wirkungs-Designs in den Studien erhöht die Schwierigkeit, die Wirkungen zu interpretieren. Insgesamt lösten die V8- und V9-Testsubstanzen bei Ratten nach 17-tägiger Exposition eine starke, aber größtenteils reversible immunverknüpfte Reaktion aus. In der Studie 20GR142 wurde ein Anstieg der Neutrophilen, Monozyten, Eosinophilen und Basophilen beobachtet. Für den Antragsteller standen die in der Studie 20GR142 beobachteten Anstiege der Neutrophilen, Monozyten, Eosinophilen und Basophilen im Zusammenhang mit

Entzündungs-/Immunreaktion auf die Verabreichung von BNT162b2. Ähnliche Ergebnisse wurden auch in Studie 38166 bei Tieren festgestellt, denen 100 µg BNT162b2 verabreicht wurde. Der Antragsteller gab an, dass die Zunahme der Eosinophilen und Basophilen ein untergeordneter Bestandteil des entzündlichen Leukogramms sei, das von der Zunahme der Neutrophilen dominiert werde. Der Antragsteller teilte außerdem mit, dass die Charakterisierung großer ungefärbter Zellen nicht durchgeführt wurde, da die Identifizierung dieser Zellen keine zusätzlichen Informationen liefern würde. Der CHMP stimmte dieser Position zu.

Hinsichtlich der Impfstoffkomponenten wurde nur die gesamte Formulierung (modifizierte RNA in LNPs) verwendet, daher liegen keine toxikologischen Daten zum LNP allein oder seinen spezifischen neuartigen Hilfsstoffen vor. Bei den neuartigen LNP-Komponenten handelt es sich nicht primär um Adjuvansstoffe.

Es liegen keine Studien zur Genotoxizität oder Karzinogenität vor. Die Bestandteile der Impfstoffformulierung sind Lipide und RNA, von denen nicht erwartet wird, dass sie ein genotoxisches Potenzial haben.

Der neuartige Hilfsstoff ALC-0159 enthält eine potenzielle Acetamid-Einheit. Die vom Antragsteller durchgeführte Risikobewertung weist darauf hin, dass das Risiko einer Genotoxizität in Bezug auf diesen Hilfsstoff sehr gering ist, basierend auf Literaturdaten, in denen die Genotoxizität von Acetamid mit hohen Dosen und chronischer Verabreichung (≥ 1000 mg/kg/Tag) verbunden ist. Da die Menge des ALC-0159-Hilfsstoffs im Endprodukt gering ist (50 µg/Dosis), seine Clearance hoch ist und nur zwei Verabreichungen des Produkts für den Menschen empfohlen werden, wird erwartet, dass das Genotoxizitätsrisiko sehr gering ist.

Da die pharmakokinetischen Verteilungsstudien an Ratten zeigten, dass sich ein relativ großer Anteil der Gesamtdosis – neben den Konzentrationen an der Injektionsstelle – in der Leber verteilt (bis zu 18 % und weit mehr als die in der Milz beobachteten Konzentrationen [<1,1 %]). , Nebennieren [<0,1 %] und Eierstöcke [<0,1 %]). Während keine schwere Pathogenese in der Leber vorlag, kam es bei V8 und V9 zu einigen reversiblen funktionellen Leber- und/oder Galleneffekten (vergrößerte Leber, Vakuolisierung, stark erhöhte γGT-Spiegel bei > 200 % und Aktivität, geringfügiger bis mäßiger Anstieg der AST-Spiegel und). ALP), das mit dem LNP verknüpft sein kann. Die γGT-Veränderungen wurden bei 30 µg V9 nicht beobachtet, was auf Variantenunterschiede und/oder, was wahrscheinlicher ist, auf eine niedrigere Dosis zurückzuführen sein kann. Der Antragsteller ist der Ansicht, dass die Vakuolen hauptsächlich auf die Anreicherung von ALC-0315 in der Leber zurückzuführen sind. Es ist zu beachten, dass ALC-0159 von der Oberfläche des LNP verloren gehen muss, um eine effiziente Aufnahme in Zielzellen zu ermöglichen. Gleichzeitig ist ALC-0315 im LNP mit einem hohen Mol-% (50 Mol-%) im Vergleich zu den anderen Lipiden im BNT162-Impfstoff vorhanden, was darauf hindeutet, dass dieses Lipid mit größerer Wahrscheinlichkeit in den Zellen (und möglicherweise in Zellen) vorhanden ist die Vakuolen).

Die Auswertung der verfügbaren Daten zur DART-Studie zeigt, dass es keine eindeutigen negativen Anzeichen für die Fruchtbarkeit und die Auswirkungen auf die frühe Embryogenese gibt. Es gab keine Auswirkungen auf den Brunstzyklus bei Muttertieren, aber es gab einen ca. 2-fachen Anstieg des Präimplantationsverlusts (ca. 9,77 % gegenüber 4,1 % bei den Kontrolltieren). Diese Auswirkungen liegen jedoch innerhalb der historischen Kontrolldaten (5,1 % bis 11,5 %), daher liegen diese Ergebnisse vor geben keinen Anlass zu besonderen Bedenken. Es kann festgestellt werden, dass die Wahl der Ratte als DART-Tiermodell durch Studien zur Toxizität bei wiederholter Gabe an Ratten gestützt wird, die eine Immunantwort auf die Impfstoffkandidaten [V8 und V9] zeigen, sowie durch die Veröffentlichung von Bowman et al. (2013; PUBMED ID [PMID] 24391099), der berichtet, dass die IgG-Verhältnisse zwischen Fötus und Mutter während der Organogenese relativ niedrig sind, sich diese Verhältnisse jedoch am Ende der Trächtigkeit sowohl bei der Ratte als auch beim Menschen dem Wert 1 nähern.

2.3.6. Fazit zu den nichtklinischen Aspekten

Der Antragsteller ging aus nichtklinischer Sicht hinreichend auf andere Bedenken ein, die für die Erteilung der Zulassung geäußert wurden.

Der CHMP ist der Ansicht, dass präklinische Daten auf der Grundlage konventioneller Studien zur Toxizität bei wiederholter Gabe sowie zur Reproduktions- und Entwicklungstoxizität keine besonderen Gefahren für den Menschen erkennen lassen.

Einige Ratten, denen Comirnaty intramuskulär verabreicht wurde (sie erhielten einmal wöchentlich 3 volle menschliche Dosen, was bei Ratten aufgrund von Körpergewichtsunterschieden zu einer relativ höheren Exposition führte), entwickelten einige Ödeme und Erytheme an der Injektionsstelle sowie einen Anstieg der weißen Blutkörperchen (einschließlich Basophiler und Eosinophiler), was mit einem übereinstimmt Entzündungsreaktion sowie Vakuolisierung der Pfortaderhepatozyten ohne Anzeichen einer Leberschädigung. Alle Effekte waren reversibel. Diese Ergebnisse werden im Abschnitt 5.3 der Fachinformation beschrieben.

Gemäß den Leitlinien wurden keine Studien zur Genotoxizität oder Karzinogenität durchgeführt. Es ist nicht zu erwarten, dass die Bestandteile des Impfstoffs (Lipide und mRNA) ein genotoxisches Potenzial haben. Dies ist für den CHMP akzeptabel.

Schließlich zeigte die kombinierte Fruchtbarkeits- und Entwicklungstoxizitätsstudie, dass SARS-CoV-2-neutralisierende Antikörperreaktionen bei mütterlichen Tieren von vor der Paarung bis zum Ende der Studie am 21. postnatalen Tag sowie bei Feten und Nachkommen vorhanden waren. Es gab keine impfbedingten Auswirkungen auf die weibliche Fruchtbarkeit, die Schwangerschaft oder die embryofetale Entwicklung oder die Entwicklung der Nachkommen bis zur Entwöhnung. Der CHMP stellte fest, dass keine Daten zum Plazentatransfer oder zur Ausscheidung des Impfstoffs in die Milch vorliegen.

2.4. Klinische Aspekte

2.4.1. Einführung

Pfizer und BioNTech haben einen Impfstoff entwickelt, der auf SARS-CoV-2 abzielt und COVID-19 verhindern soll. BioNTech hat dafür im April 2020 in Deutschland eine FIH-Studie (BNT162-01) und Pfizer eine Phase-1/2/3-Studie initiiert (C4591001) kurz darauf in den USA, das mit Beginn des Phase-2/3-Teils der Studie auf globale Standorte ausgeweitet wurde.

Phase-1/2-Studie BNT162-01

Bei der Studie BNT162-01 handelt es sich um die laufende Phase-1-Dosisfindungsstudie des FIH, in der gesunde Erwachsene im Alter von 18 bis 55 Jahren alle einen aktiven Impfstoff erhalten. Diese Studie bewertet die Sicherheit und Immunogenität mehrerer verschiedener Impfstoffkandidaten in verschiedenen Dosierungen. Das Protokoll wurde später geändert, um die Einbeziehung älterer erwachsener Teilnehmer bis zu einem Alter von 85 Jahren zu ermöglichen. In diesem Antrag werden die verfügbaren Sicherheits- und Immunogenitätsdaten der Phase 1 für Erwachsene im Alter von 18 bis 55 Jahren aufgeführt. In dieser Studie werden mehrere Impfstoffkandidaten evaluiert. Für jeden Impfstoffkandidaten erhielten die Teilnehmer ansteigende Dosisstufen (N=12 pro Dosisstufe), wobei auf der Grundlage der Empfehlung eines Sponsor Safety Review Committee (SRC) zu nachfolgenden Dosisstufen übergegangen wurde.

Phase 1/2/3-Studie C4591001

Bei der Studie C4591001 handelt es sich um die laufende, randomisierte, placebokontrollierte Phase-1/2/3-Zulassungsstudie zur Registrierung. Sie begann als Phase-1/2-Studie an Erwachsenen in den USA und wurde dann geändert, um die Studie zu einer globalen Phase-2/3-Studie zu erweitern, die die Aufnahme von ca. 44.000 Teilnehmern vorsieht, um genügend COVID-19-Fälle zu sammeln, um eine zeitnahe Wirksamkeitsbewertung durchführen zu können ; geändert, um ältere Jugendliche im Alter von 16 bis 17 Jahren einzubeziehen, später dann geändert, um jüngere Jugendliche im Alter von 12 bis 15 Jahren einzubeziehen. In Phase 1 wurden zwei Altersgruppen getrennt untersucht, jüngere Teilnehmer (18 bis 55 Jahre) und ältere Teilnehmer (65 bis 85 Jahre). Die Studienpopulation umfasst männliche und weibliche Teilnehmer, die aufgrund ihrer Krankengeschichte, körperlichen Untersuchung (falls erforderlich) und der klinischen Beurteilung des Prüfarztes als gesund gelten und für die Aufnahme in die Studie in Frage kommen. Zu den Ausschlüssen gehörten untersuchte Personen mit einem hohen Risiko einer SARS-CoV-2-Infektion aufgrund der Exposition am Arbeitsplatz und/oder medizinischer Bedingungen, die Risikofaktoren darstellen, klinisch bedeutsame Vorerkrankungen oder Laboranomalien sowie serologische Hinweise auf eine frühere SARS-CoV-2-Infektion oder aktuelle SARS-CoV-2-Infektion, gemessen durch Polymerase-Kettenreaktion (PCR).

GCP

Der Antragsteller behauptete, dass die im Antrag enthaltenen klinischen Studien in Übereinstimmung mit GCP durchgeführt wurden.

Der Antragsteller hat eine Erklärung abgegeben, dass klinische Studien, die außerhalb der Gemeinschaft durchgeführt wurden, im Einklang mit den ethischen Standards der Richtlinie 2001/20/EG durchgeführt wurden.

Um die GCP-Konformität der in diesem Dossier enthaltenen Studien noch weiter zu bestätigen, hat die EMA im Zusammenhang mit der COVID-19-Pandemie zusätzliche Informationen wie unten angegeben von EU- und Nicht-EU-Regulierungsbehörden gesammelt und diese an die EU-Regulierungsbehörden weitergegeben Bei der Beurteilung zu berücksichtigendes CHMP:

- ein vollständiger Inspektionsbericht der GCP-Inspektion durch das Regierungspräsidium Karlsruhe und das Paul-Ehrlich-Institut, die an einem der Prüfstandorte und bei einem CRO in Deutschland für die Studie BNT 162-01 durchgeführt wurde;
- Betriebsinspektionsberichte der GCP-Inspektion durch die Food and Drug Administration (US-Regulierungsbehörde) von sechs Prüfstandorten in den USA für die Studie C4591001 (BNT 162-02);
- Ein vollständiger Inspektionsbericht und die Zusammenfassungen der Ergebnisse von zwei GCP-Inspektionen durch die Nationale Behörde für Arzneimittel, Lebensmittel und Medizinprodukte (argentinische Regulierungsbehörde), die an einem einzigen Standort in Argentinien für die Studie C4591001 (BNT 162-02) durchgeführt wurden.

Auf der Grundlage der Überprüfung der klinischen Daten und der oben genannten Berichte hat der CHMP keine Notwendigkeit für eine GCP-Inspektion der in diesem Dossier enthaltenen klinischen Studien festgestellt.

- Tabellarischer Überblick über klinische Studien

Tabelle 1 überblick über die klinische Entwicklung

Sponsor	Study Number (Status)	Phase Study Design	Test Product (Dose)	Number of Subjects	Type of Subjects (Age)
BioNTech	BNT162-01 (ongoing)	Phase 1/2 randomized, open-label, dose-escalation, first-in-human	BNT162b2 (1, 3, 10, 20, 30 µg)	Phase 1: 60	Adults (18-55 years of age)
BioNTech (Pfizer)	C4591001 (ongoing)	Phase 1/2/3 randomized, observer-blind, placebo-control	Phase 1: BNT162b2 (10, 20, 30 µg) Placebo	Phase 1: 90 randomized 4:1 (within each dose/age group)	Phase 1: Adults (18-55 years of age, 65-85 years of age)
			Phase 2: BNT162b2 (30 µg) Placebo	Phase 2: 360 randomized 1:1	Phase 2: Adults (18-55 years of age, 65-85 years of age)
			Phase 3: BNT162b2 (30 µg) Placebo	Phase 3: ~44,000 randomized 1:1 (includes 360 in Phase 2)	Phase 3: Adolescents, Adults (12-15 years of age, 16-55 years of age, >55 years of age)

Note: study information relevant to the scope of data presented in this application are summarized in this table.

Tisch 2 **Überblick über die zulassungsrelevante Phase-3-Studie**

Studienausweis	Anzahl Studie Zentren / Standorte	Design	Studie Dosierung	Studienziel	Diagnose inkl. Kriterien	Primärer Endpunkt
C4591001	131 Vereint Zustände 9 Türkei 6 Deutschland 4 Süden Afrika 2 Brasilien 1 Argentinien.	zufällig, multinational, Placebo-kontrolliert, beobachterblind,	2 Dosen 30 µg gegeben 21 Tage auseinander	Primär: Um die zu bewerten Wirksamkeit von BNT162b2 gegen bestätigt schweres COVID-19 trat bei Teilnehmern 7 bis 14 Tage nach der 2. Dosis auf mit und ohne Hinweise auf eine Infektion vor der Impfung	Gesund Freiwillige gefährdet COVID 19	COVID-19-Inzidenz pro 1000 Personenjahre Follow-up basierend auf Zentrallabor bzw lokal bestätigtes NAAT bei Teilnehmern ohne serologischer oder virologischer Nachweis (bis zu 7 Tage nach Erhalt des Antrags). zweite Dosis) einer früheren SARS-CoV-2-Infektion

2.4.2. Pharmakokinetik

Unzutreffend.

2.4.3. Pharmakodynamik

Wirkmechanismus

Die nukleosidmodifizierte Boten-RNA im Impfstoff ist in Lipid-Nanopartikeln formuliert, die den Transport der RNA in Wirtszellen ermöglichen, um die Expression des SARS-CoV-2 S-Antigens zu ermöglichen. Der Impfstoff löst sowohl neutralisierende Antikörper als auch zelluläre Immunantworten auf das Spike (S)-Antigen aus, was zum Schutz vor COVID-19 beitragen kann.

Immunogenitätsstudien

Bei Impfstoffen bezieht sich die Pharmakodynamik auf die Untersuchung der Immunogenität. Die verfügbaren Daten stammen aus der in Deutschland durchgeführten Phase-1/2-Studie BNT162-01 und aus den Phase-1- und Phase-2-Teilen der in den USA durchgeführten Phase-1/2/3-Studie C4591001 (spätere Phasen waren multinational). Beide Studien waren darauf ausgelegt, den optimalen Impfstoffkandidaten sowie eine geeignete Dosis und einen geeigneten Zeitplan für weitere Studien auszuwählen. Von den vier zunächst getesteten prophylaktischen SARS-CoV-2-RNA-Impfstoffen wurden die folgenden zwei Kandidaten für die weitere Entwicklung ausgewählt:

BNT162b1 : RNA-Lipid-Nanopartikel (LNP)-Impfstoff, der nukleosidmodifizierte Messenger-Ribonukleinsäure (modRNA) enthält, die für die RBD (Rezeptor-Bindungsdomäne) kodiert.

BNT162b2 : RNA-LNP-Impfstoff, der modRNA enthält, die SARS-CoV-2 voller Länge, P2-Mutante (siehe Abschnitt 2.2.2), Präfusions-Spike-Glykoprotein (P2 S) kodiert.

Die wichtigsten Merkmale der beiden Studien sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Studien-ID	BNT162-01	C4591001
Titel	Eine zweiteilige Phase-1/2-Dosiseskalationsstudie an mehreren Standorten, in der die Sicherheit und Immunogenität von vier untersucht wird prophylaktische SARS-CoV-2-RNA-Impfstoffe gegen COVID-19 mit	Eine placebokontrollierte, randomisierte, beobachterblinde Dosisfindungsstudie der Phasen 1/2/3 zur Bewertung der Sicherheit, Verträglichkeit, Immunogenität und Wirksamkeit des SARS-COV-2-RNA-Impfstoffs

	unterschiedliche Dosierungsschemata bei gesunden Erwachsenen	Kandidaten gegen COVID-19 bei gesunden Personen
Design	Dies ist eine offene, zweiteilige Phase-1/2-Studie mit Dosissteigerung an mehreren Standorten. Teil A der Studie umfasst die erste in der menschlichen Dosis und Dosisbereichsgruppen bei gesunden Erwachsenen (im Alter von 18 bis 85 Jahren).	Hierbei handelt es sich um eine randomisierte, multinationale, placebokontrollierte, beobachterblinde Phase-1/2/3-Studie zur Dosisfindung, Auswahl von Impfstoffkandidaten und Wirksamkeit an gesunden Personen. Die Studie besteht aus zwei Teilen: Phase 1 zur Ermittlung bevorzugter Impfstoffkandidaten und Dosisstufen; und Phase 2/3 als erweiterter Kohorten- und Wirksamkeitsteil.
Immunogenität Ziele	Beschreibung der Immunantwort bei gesunden Erwachsenen nur nach Dosis 1 oder nach Dosis 1 und 2 gemessen durch einen funktionellen Antikörpertiter	Beschreibung der Immunantworten, die durch prophylaktische BNT162-Impfstoffe bei gesunden Erwachsenen nach 1 oder 2 Dosen hervorgerufen werden
Studie Bevölkerung	Gesunde Erwachsene im Alter von 18 bis 55 Jahren BNT162b1 : N=84 (12/Gruppe) BNT162b2 : N=60 (12/Gruppe) Gesunde Erwachsene im Alter von 56–85 Jahren BNT162b1 : N=36 (12/Gruppe) BNT162b2 : N=36 (12/Gruppe)	Männliche oder weibliche Teilnehmer im Alter zwischen 18 und 55 Jahren (einschließlich) und 65 und 85 Jahren (einschließlich). Phase 1 umfasste 15 Teilnehmer (Randomisierungsverhältnis von 4:1, sodass 12 einen aktiven Impfstoff und 3 ein Placebo erhielten) pro Gruppe; Es wurden 13 Impfstoffgruppen untersucht, was insgesamt 195 Teilnehmern entspricht (die 100-µg-Dosis wurde nur in der Kohorte jüngerer Erwachsener verwendet).
IMP und Dosis Ebene	BNT162b1 : 1 µg, 3 µg, 10 µg, 20 µg, 30 µg, 50 µg und 60 µg. BNT162b2 : 1µg, 3µg, 10µg, 20µg, 30µg	BNT162b1: 10 µg, 20 µg, 30 µg, 100 µg BNT162b2: 10 µg, 20 µg, 30 µg Placebo: normale Kochsalzlösung
Dosierung Frequenz	Zwei Injektionen im Abstand von ca. 21 Tagen	Zwei Injektionen im Abstand von ca. 21 Tagen
Immunogenität Endpunkte	Virusneutralisationstest (VNT). Antikörperbindungstest, CMI-Assays, z. B. ELISpot und intrazelluläre Zytokinfärbung (ICS).	SARS-CoV-2-Neutralisationstest S1-Bindungs-IgG-Spiegeltest RBD-Bindungs-IgG-Spiegeltest N-bindender Antikörpertest

Endpunkte und Tests zur Bewertung der Immunogenität

In der Studie BNT162-01 wurde die Immunogenität in Phase 1 mithilfe eines SARS-CoV-2-Serumneutralisationstests bewertet, um Neutralisationstiter und den fachen Anstieg der SARS-CoV-2-Serumneutralisationstiter zu bestimmen. Die Immunogenität wurde am Tag 1 (vor Dosis 1) und 7 Tage nach Dosis 1 (Tag 8) bewertet; und am Tag 22 (vor Dosis 2) und 7 Tage, 14 Tage und 21 Tage nach Dosis 2. Es wurden nur qualifizierte Tests verwendet. Darüber hinaus wurden T-Zellen aus mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMCs) isoliert

Vollblutproben von geimpften Phase-1-Teilnehmern wurden mittels Enzymimmunospot (ELISPOT) und intrazellulärer Zytokinfärbung ausgewertet, die mit fluoreszenzaktivierter Zellsortierung (FACS) sichtbar gemacht wurde. Den Studienteilnehmern wurden vor der ersten Impfdosis und am 29. Tag (7 Tage) nach der zweiten Impfdosis Blutproben entnommen. Die Bewertungen umfassten Zytokine, die mit Th1-Reaktionen wie IFNγ und IL-2 assoziiert sind, und solche, die mit Th2-Reaktionen wie IL-4 assoziiert sind, um die Induktion ausgeglichener versus Th1-dominanter oder Th2-dominanter Immunantworten zu analysieren.

In der Studie C4591001 wurde die Immunogenität in Phase 1 und Phase 2 mithilfe eines SARS-CoV-2-Serumneutralisationstests zur Bestimmung der Titer und eines SARS-CoV-2-RBD- oder S1-bindenden IgG-Direkt-Luminex-Immunoassays zur Bestimmung der Antikörperbindungsniveaus bewertet. Auch Faltanstiege wurden bewertet. Es wurden nur qualifizierte Tests verwendet. In Phase 1 wurde die Immunogenität am Tag 1 (vor Dosis 1) und 7 Tage nach Dosis 1 bewertet; und am Tag 21 (vor Dosis 2) und 7 Tage, 14 Tage und 1 Monat nach Dosis 2. Die Daten wurden für jede Dosisstufe und Altersgruppe zusammengefasst. In Phase 2 wurde die Immunogenität am Tag 1 (vor Dosis 1) und 1 Monat nach Dosis 2 bewertet. Die Daten wurden für jede Altersschichtgruppe und anhand des Nachweises einer früheren SARS-CoV-2-Infektion zu Studienbeginn per NAAT (PCR) oder N zusammengefasst -bindender IgG-Assay. Um die Interpretation der in Studie C4591001 generierten Immunogenitätsdaten zu erleichtern, wurde ein Panel mit menschlichem Rekonvaleszenzserum (HCS) von Sanguine Biosciences (Sherman Oaks, CA), MT Group (Van Nuys, CA) und Pfizer Occupational Health and Wellness (Pearl River, NY). Die 38 Seren im Panel wurden von mit SARS-CoV-2 infizierten oder mit COVID-19 diagnostizierten Personen im Alter von 18 bis 83 Jahren ≥ 14 Tage nach der PCR-bestätigten Diagnose zu einem Zeitpunkt gesammelt, als sie asymptomatisch waren. Die Serumspender hatten überwiegend symptomatische Infektionen (35 von 38), darunter einer, der ins Krankenhaus eingeliefert wurde. In Phase 3 sind explorative Immunogenitätsbewertungen zu Zeitpunkten von bis zu 24 Monaten geplant, über die zu einem späteren Zeitpunkt berichtet wird.

Dies sind die Immunogenitätstests, die in klinischen Studien verwendet wurden:

Single-Plex Direct Luminex Assay zur Quantifizierung von SARS-CoV-2 S1-bindendem IgG in menschlichem Serum

Single-Plex Direct Luminex Assay zur Quantifizierung von SARS-CoV-2 RBD-bindendem IgG in menschlichem Serum

Roche Elecsys SARS-CoV-2 N-Bindungsantikörpertest

mNeonGreen SARS-CoV-2 Mikroneutralisationstest

ELISpot-Assay

Intrazelluläre Zytokinfärbung (ICS) für BNT162b1 und BNT162b2

Das SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1-Isolat-Spike-Glykoprotein (GenBank-Zugangsnummer QHD43416.1) ist die Referenzsequenz für die rekombinanten S1- und RBD-Proteine, die in den Luminex-Assays verwendet werden. Der SARS-CoV-2-Neutralisierungstest verwendete einen zuvor beschriebenen Stamm von SARS-CoV-2 (USA_WA1/2020).

Studie BNT162-01

Immunogenität – funktionelle Antikörperreaktionen (sekundäre Ziele)

Daten zu funktionellen Antikörpertitern sind bis zum 43. Tag für jüngere Erwachsene (18 bis 55 Jahre) verfügbar, denen an den Tagen 1 (alle Dosisstufen) und 22 (alle Dosisstufen außer 60 µg) 1, 10, 30, 50 und 60 µg BNT162b1 verabreicht wurden) (n=12 pro Gruppe). Es liegen Daten für 10 und 30 µg bis zum 50. Tag für jüngere Erwachsene vor, denen an den Tagen 1 und 22 1, 10, 20 und 30 µg BNT162b2 verabreicht wurden (Dosisstufe 1 µg, n = 9; Dosisstufen 10, 20 und 30 µg, n=12).

Die GMTs virusneutralisierender Antikörper für Teilnehmer im Alter von 18 bis 55 Jahren nach der Gabe von BNT162b1 sind in Abbildung 3 dargestellt. Am 22. Tag, 21 Tage nach der ersten Dosis, waren die GMTs virusneutralisierender Antikörper für alle Dosisgruppen dosisabhängig angestiegen . 7 Tage nach der zweiten Dosis (Tag 29) zeigten neutralisierende GMTs eine starke, dosisabhängige Auffrischungsreaktion. In der 60-µg-Dosisgruppe

die nur einmal verabreicht wurde, blieben die neutralisierenden GMTs auf einem niedrigeren Niveau, was darauf hindeutet, dass eine Auffrischungsdosis erforderlich ist, um die funktionellen Antikörpertiter zu erhöhen.

Am Tag 43 (21 Tage nach der zweiten Dosis von BNT162b1) nahmen die neutralisierenden GMTs ab (mit Ausnahme der 1-µg-Dosisstufe). Die virusneutralisierenden GMTs am Tag 43 waren 0,7-fach (1 µg) bis 3,6-fach (50 µg) höher als die eines COVID-19-HCS-Panels.

Das COVID-19-HCS-Panel besteht aus 38 menschlichen COVID-19-HCS-Seren, die von Personen im Alter von 18 bis 83 Jahren mindestens 14 Tage nach der bestätigten Diagnose und zu einem Zeitpunkt, als die Personen asymptomatisch waren, entnommen wurden.

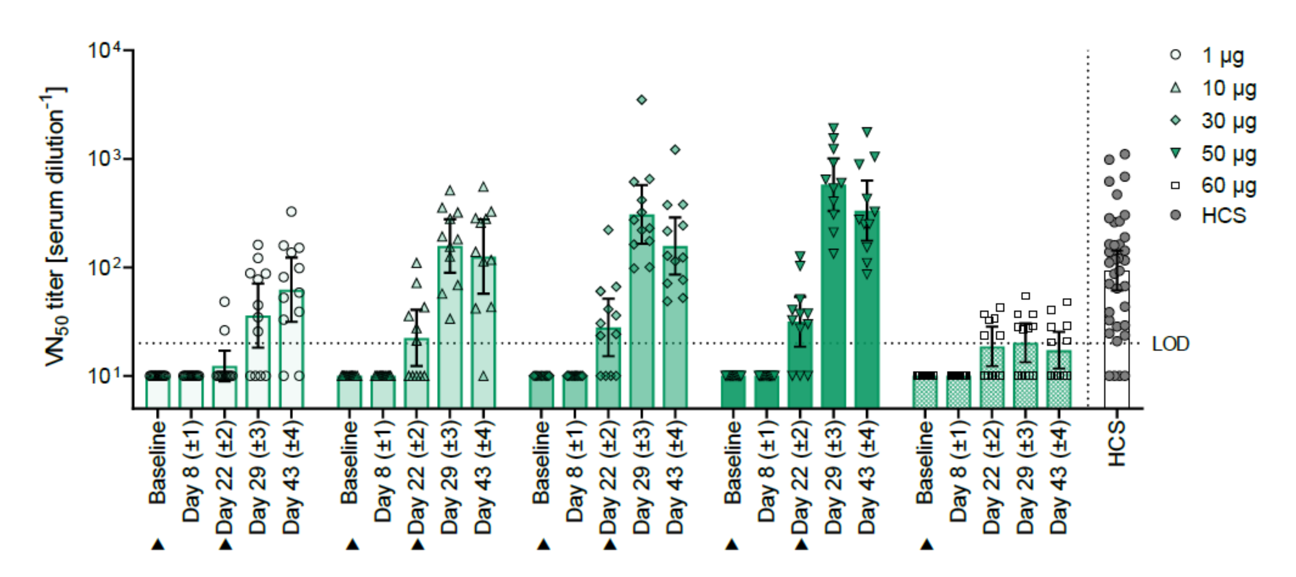


Abbildung 3: BNT162b1 – Funktionelle 50 % neutralisierende SARS-CoV-2-Antikörpertiter (VN50) – IMM

VN_{50}Für jüngere Teilnehmer (im Alter von 18 bis 55 Jahren), die mit 1, 10, 30, 50 oder 60 µg BNT162b1 immunisiert wurden, werden Titer mit 95 %-Konfidenzintervallen angezeigt. Werte, die kleiner als die Nachweisgrenze (LOD) sind, werden als 0,5*LOD dargestellt. Pfeilspitzen zeigen den Ausgangswert (vor Dosis 1, Tag 1) und Dosis 2 (Tag 22) an. Dosis 2 wurde in der 60-µg-Dosisgruppe nicht durchgeführt. Die gepunktete horizontale Linie stellt den LOD dar. IMM = Immunogenitätssatz; VN50 = 50 % SARS-CoV-2 neutralisierende Antikörpertiter; HCS = menschliches COVID-19-Rekonvaleszenzserum

Informationen zu virusneutralisierenden Antikörper-GMTs für Teilnehmer im Alter von 18 bis 55 Jahren nach der Gabe von BNT162b2 finden Sie in Abbildung 4. Teilnehmer, denen BNT162b2 verabreicht wurde, zeigten eine starke IMP-induzierte Antikörperreaktion. Virusneutralisierende GMTs wurden 21 Tage nach Dosis 1 (Tag 22) nachgewiesen und waren bei jüngeren Teilnehmern (im Alter von 18 bis 55 Jahren), die mit ≥3 µg BNT162b2 immunisiert wurden, und bei älteren Teilnehmern (im Alter von 56 bis 85 Jahren), die mit 20 µg immunisiert wurden, erheblich angestiegen BNT162b2 7 Tage nach Dosis 2 (Tag 29). Die virusneutralisierenden GMTs am 29. Tag waren bei jüngeren und älteren Erwachsenen in den Kohorten mit der 20-µg-Dosisstufe vergleichbar. Die niedrigste getestete Dosis von 1 µg BNT162b2 löste bei Teilnehmern im Alter von 18 bis 55 Jahren nur eine minimale neutralisierende Reaktion aus.

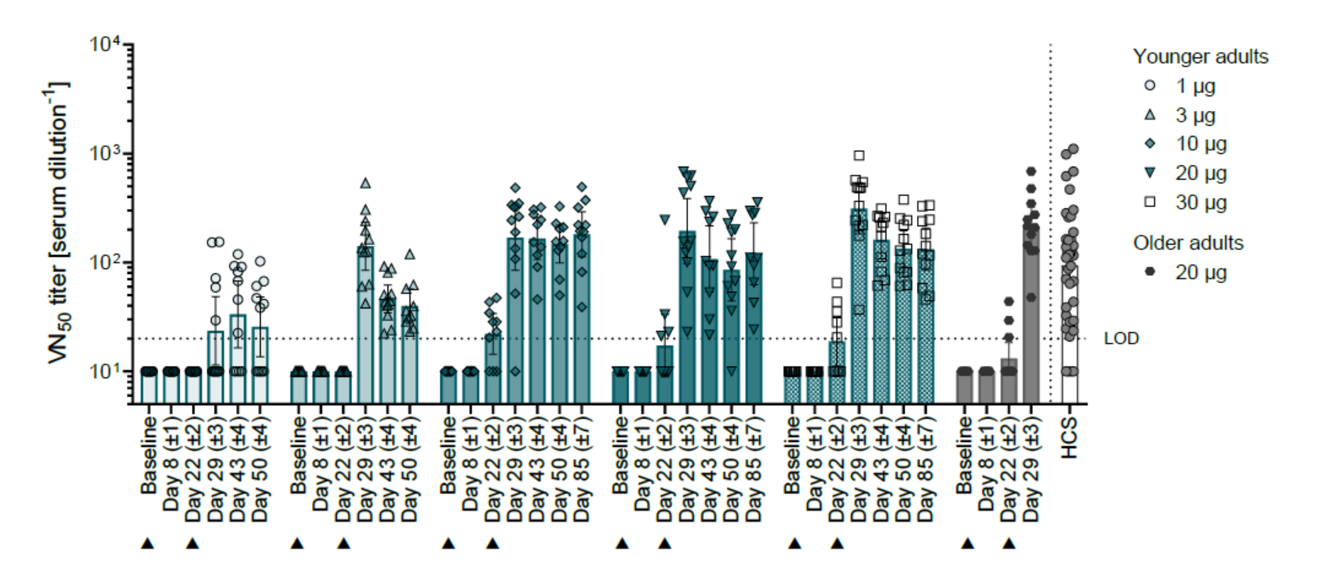


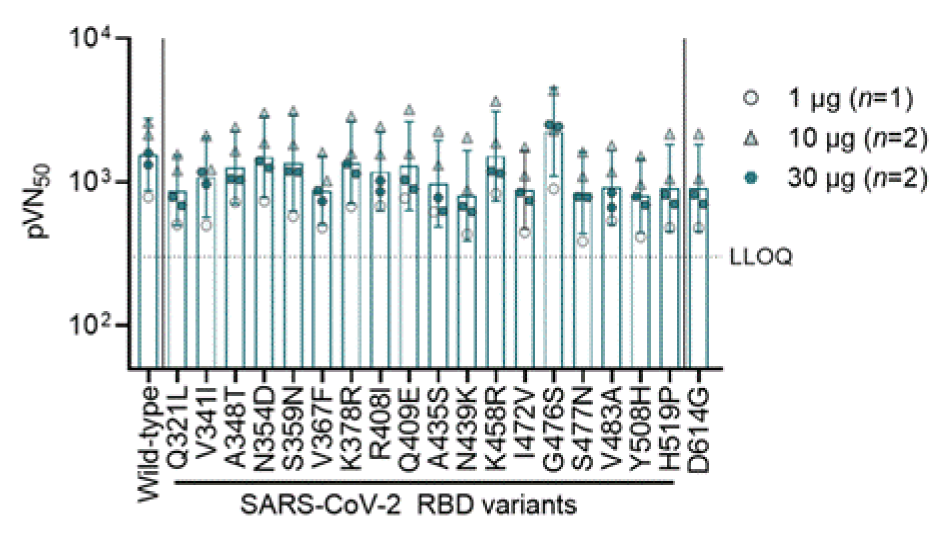
Abbildung 4: BNT162b2 – Funktionelle 50 % neutralisierende SARS-CoV-2-Antikörpertiter (VN50) – IMM

VN50-Titer mit 95 %-Konfidenzintervallen werden für jüngere Erwachsene (im Alter von 18 bis 55 Jahren) angezeigt, die mit 1, 3, 10, 20 oder 30 µg BNT162b2 immunisiert wurden, und für ältere Erwachsene (im Alter von 56 bis 85 Jahren), die mit 20 µg BNT162b2 immunisiert wurden. Werte, die kleiner als die Nachweisgrenze (LOD) sind, werden als 0,5*LOD dargestellt. Pfeilspitzen zeigen den Ausgangswert (vor Dosis 1, Tag 1) und Dosis 2 (Tag 22) an. Die gepunktete horizontale Linie stellt den LOD dar.

IMM = Immunogenitätssatz; VN50 = 50 % SARS-CoV-2 neutralisierende Antikörpertiter; HCS = menschliches COVID-19-Rekonvaleszenzserum.

Neutralisierung verschiedener Spike-Protein-Mutanten

Verschiedene Pseudoviren, einschließlich RBD-Sequenzvarianten, wurden in einem Pseudovirus-Neutralisationstest mit Seren von BNT162b1- und BNT162b2-immunisierten Teilnehmern der BNT162-01-Studie getestet. Eine effiziente Neutralisierung von Spike-Protein-Mutanten wurde mit Seren von mit BNT162b1 und BNT162b2 immunisierten Teilnehmern beobachtet, was die Neutralisierungsbreite der durch den Impfstoff hervorgerufenen polyklonalen Antikörper belegt.



BNT162b2-induzierte Virusneutralisationstiter mit Pseudovirus-Neutralisationstitern von 50 % (pVNT50) in einem Pseudovirus-Panel mit 19 SARS-CoV-2-Spike-Protein-Varianten, darunter 18 RBD-Mutanten und der dominanten Spike-Protein-Variante D614G. LLOQ = Unteres Quantifizierungsniveau (bei 300). Die Daten werden als Gruppen-GMT (insgesamt n=5) mit 95 %-KI angezeigt.

Zellvermittelte Immunität (CMI)

CMI wurde anhand von IFNγ-produzierenden CD4+- und CD8+-T-Zellen mit ELISpot gemessen. Beide Impfstoffkandidaten lösten deutliche Reaktionen aus (Ausgangswert vs. nach Dosis 2). Die weitere Charakterisierung erfolgte mittels intrazellulärer Zytokinfärbung für Th1-Zytokine (IFNγ, IL-2) und Th2-Zytokine (IL-4). Beide Impfstoffkandidaten stimulierten überwiegend Th1-Reaktionen, sowohl in CD4- als auch in CD8-T-Zellen.

Studie C4591001

Methoden

Die statistischen Analysen der Immunogenitätsdaten aus Studie C4591001 basierten auf den auswertbaren Immunogenitätspopulationen und allen verfügbaren Immunogenitätspopulationen. Die Daten der Phasen 1 und 2 wurden für SARS-CoV-2-Serumneutralisierungstiter und SARS-CoV-2-S1-bindende und RBD-bindende IgG-Konzentrationen wie folgt gemeldet:

- geometrische mittlere Titer/Konzentrationen (GMTs/GMCs)
- geometrischer Mittelfaltenanstieg (GMFR)
- Geometrisches Mittelverhältnis (GMR) (nur für Phase 1)
- Anteile der Teilnehmer mit ≥4-fachem Anstieg (nur für Phase 1)
- Antikörpertiter/-spiegel bei definierten Schwellenwerten (nur für Phase 2)

Für die Immunogenitätsergebnisse der SARS-CoV-2-Serumneutralisierungstiter und S1- oder RBD-bindenden IgG-Konzentrationen wurden GMTs oder GMCs mit zugehörigen 95 %-KIs berechnet.

Der GMFR wurde berechnet, indem der Mittelwert der Differenz der logarithmisch transformierten Testergebnisse (späterer Zeitpunkt) – (früherer Zeitpunkt) mit zweiseitigen KIs potenziert wurde. Der GMR wurde als Mittelwert der Differenz der logarithmisch transformierten Testergebnisse berechnet: (SARS-CoV-2-Serumneutralisierungstiter) – (SARS-CoV-2-Anti-S-bindender Antikörper) für jeden Teilnehmer, dann Potenzierung des Mittelwerts mit zweiseitigen CIs.

Ergebnisse

Ziel der Studie war die Bewertung von zwei SARS-CoV-2-RNA-Impfstoffkandidaten als Zwei-Dosen-Schema (im Abstand von 21 Tagen) mit unterschiedlichen Dosierungen (BNT162b1: 10, 20, 30 und 100 µg, BNT162b2: 10, 20 und 30 µg) und in verschiedenen Altersgruppen (18–55 Jahre; 65–85 Jahre), um einen Impfstoff und eine Dosisstufe für weitere Tests in Phase 2/3 auszuwählen. Stichtag: 24. August 2020 (1 Monat nach Dosis 2 = D52).

Ergebnisse zur Immunogenität liegen für beide Altersgruppen von Erwachsenen bis zu einem Monat nach der zweiten Dosis für die Impfstoffkandidaten BNT162b1 und BNT162b2 in den Dosierungen 10 µg, 20 µg und 30 µg und bis zu 7 Wochen nach der ersten Dosis vor BNT162b1 in der 100-µg-Dosisstufe (nur jüngere Altersgruppe).

Ergebnisse für die 7 Tage nach dem Zeitpunkt der ersten Dosis werden nur in der jüngeren Altersgruppe (18 bis 55 Jahre) für 10 µg und 30 µg BNT162b1 analysiert und präsentiert.

Ergebnisse zur Immunogenität: SARS-CoV-2-Neutralisierungstiter

BNT162b1

In der jüngeren Altersgruppe stiegen die SARS-CoV-2 50 % neutralisierenden GMTs bis zum 21. Tag nach Dosis 1 leicht an und waren 7 Tage nach Dosis 2 (Tag 28) von BNT162b1 deutlich erhöht (Abbildung 5).

Im Allgemeinen wurden ähnliche Trends in der älteren Altersgruppe beobachtet, wobei höhere GMTs in den 20-µg- und 30-µg-Dosisgruppen von BNT162b1 im Vergleich zur 10-µg-Dosisgruppe beobachtet wurden (Abbildung 6). Im höheren Alter

In der Gruppe waren die SARS-CoV-2 50 % neutralisierenden GMTs im Allgemeinen niedriger als die GMTs in der jüngeren Altersgruppe.

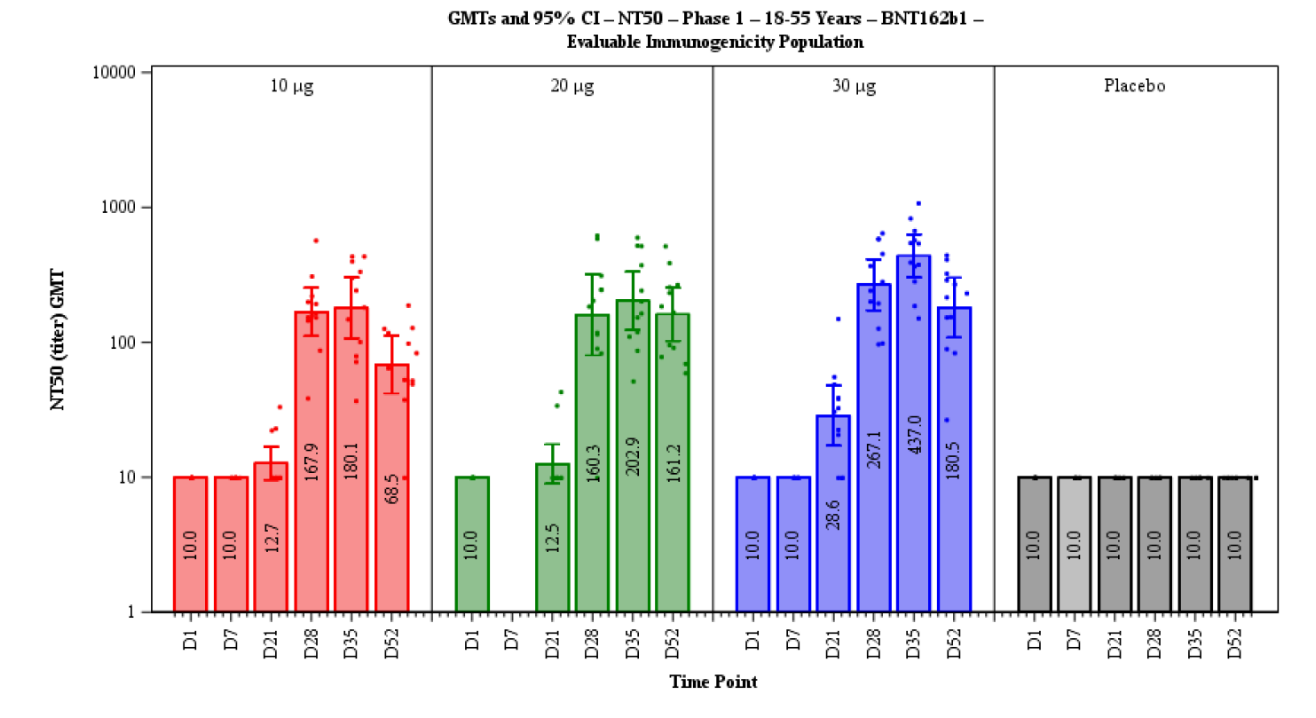


Abbildung 5. Geometrische mittlere Titer und 95 %-KI: SARS-CoV-2-Neutralisierungstest – NT50 – Phase 1, 2 Dosen, 21 Tage Abstand – 18–55 Jahre alt – BNT162b1 – auswertbare Immunogenitätspopulation

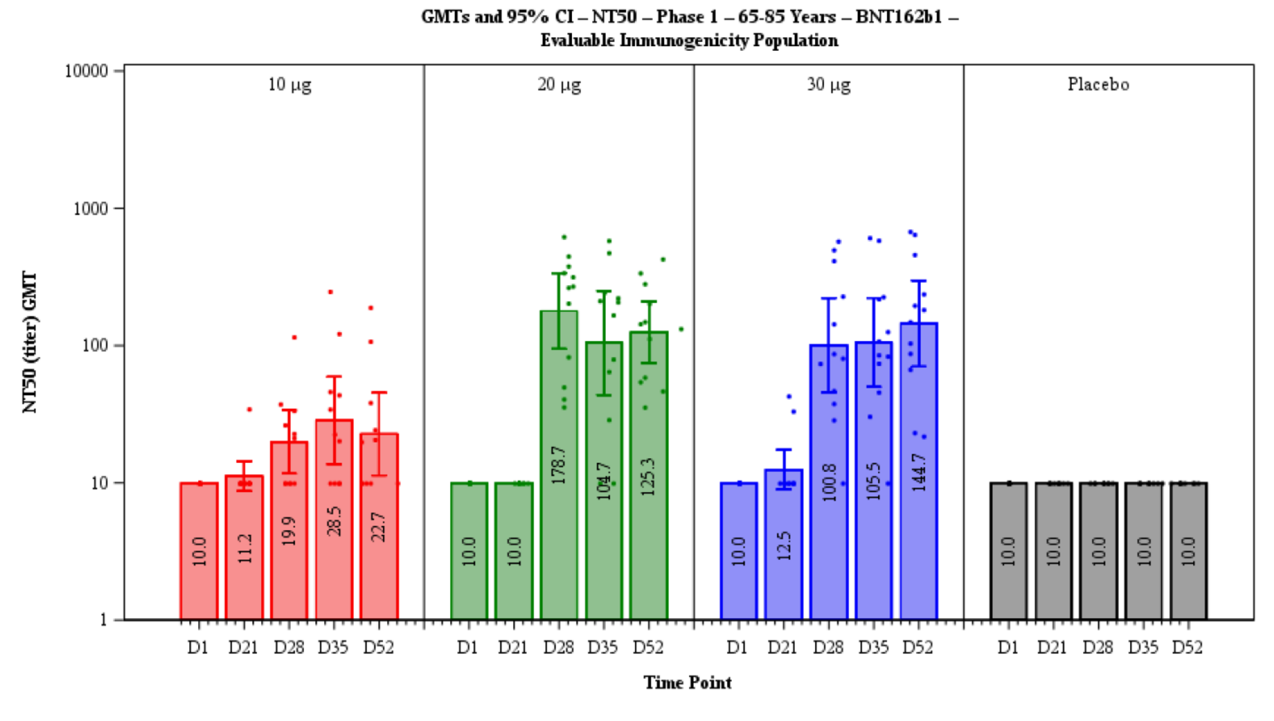
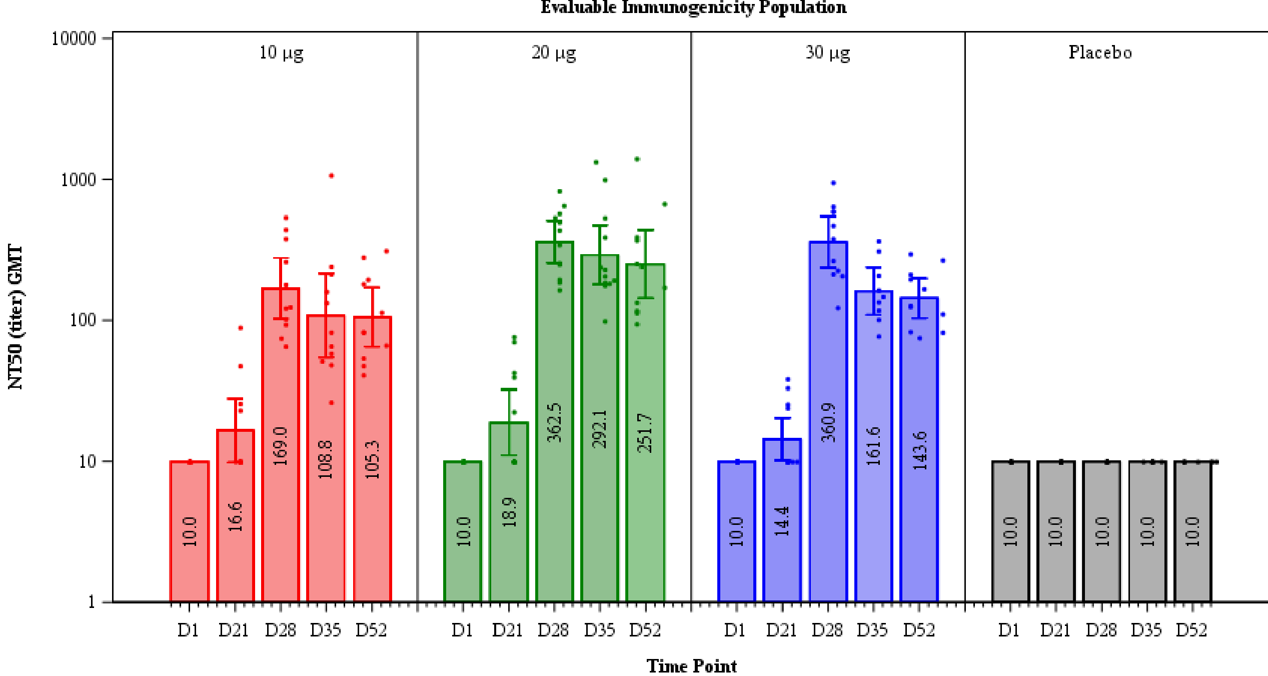


Abbildung 6. Geometrische mittlere Titer und 95 %-KI: SARS-CoV-2-Neutralisierungstest – NT50 – Phase 1, 2 Dosen, 21 Tage Abstand – 65–85 Jahre alt – BNT162b1 – auswertbare Immunogenitätspopulation

BNT162b2

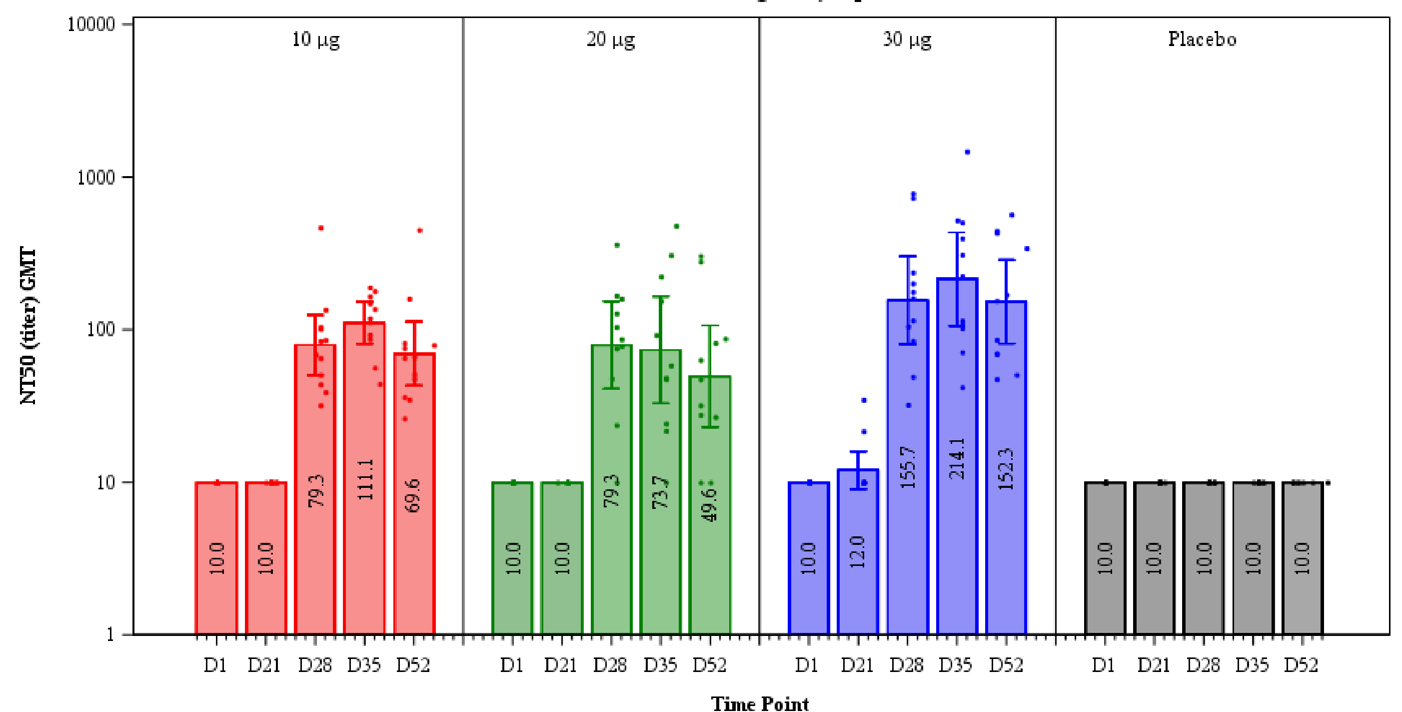
In der jüngeren Altersgruppe stiegen die SARS-CoV-2 50 % neutralisierenden GMTs am 21. Tag nach Dosis 1 an und waren 7 Tage nach Dosis 2 (Tag 28) von BNT162b2 deutlich erhöht (Abbildung 7).

Ähnliche Trends wurden im Allgemeinen in der älteren Altersgruppe beobachtet, wobei höhere GMTs in den 30-µg-Dosisgruppen im Vergleich zu den 20-µg- und 10-µg-Dosisgruppen beobachtet wurden (Abbildung 8). In der älteren Altersgruppe waren die 50 % neutralisierenden GMTs von SARS-CoV-2 im Allgemeinen niedriger als die GMTs in der jüngeren Altersgruppe.



Abbreviations: GMT = geometric mean titer; NT50 = 50% neutralizing titer; SARS-CoV-2 = severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.
Note: Dots present individual antibody levels.
Note: Number within each bar denotes geometric mean.
PFIZER CONFIDENTIAL SDTM Creation: 17SEP2020 (22:01) Source Data: adva Table Generation: 17SEP2020 (23:29)
(Cutoff Date: 24AUG2020, Snapshot Date: 17SEP2020) Output File: ./nda3/C4591001_IA_P1_Serology/adva_f002_sars_50_18_b2_p1

Abbildung 7. Geometrische mittlere Titer und 95 %-KI: SARS-CoV-2-Neutralisierungstest – NT50 – Phase 1, 2 Dosen, 21 Tage Abstand – 18–55 Jahre alt – BNT162b2 – auswertbare Immunogenitätspopulation



Abbreviations: GMT = geometric mean titer; NT50 = 50% neutralizing titer; SARS-CoV-2 = severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.
Note: Dots present individual antibody levels.
Note: Number within each bar denotes geometric mean.
PFIZER CONFIDENTIAL SDTM Creation: 17SEP2020 (22:01) Source Data: adva Table Generation: 17SEP2020 (23:29)
(Cutoff Date: 24AUG2020, Snapshot Date: 17SEP2020) Output File: ./nda3/C4591001_IA_P1_Serology/adva_f002_sars_50_65_b2_p1

Abbildung 8. Geometrische mittlere Titer und 95 %-KI: SARS-CoV-2-Neutralisierungstest – NT50 – Phase 1, 2 Dosen, 21 Tage Abstand – 65–85 Jahre alt – BNT162b2 – auswertbare Immunogenitätspopulation

2.4.4. Diskussion zur klinischen Pharmakologie

Die Auswahl und Dosierung des Impfstoffkandidaten basierte auf den Ergebnissen zweier klinischer Phase-I-Studien. In beiden Studien wurden die Immunantwort und die Sicherheit der beiden Kandidaten untersucht. Die Immunreaktionen in Form neutralisierender Antikörperreaktionen zeigten deutlich, dass zwei Dosen im Vergleich zu Reaktionen nach nur der ersten Dosis zu erhöhten geometrischen Mitteltitern (GMTs) führten. Da kein serologisches Schutzkorrelat vorliegt, stützen diese Daten, dass bei Erwachsenen zwei Dosen erforderlich wären. Die Reaktionen waren in höheren Dosisgruppen numerisch höher als in niedrigeren Dosen, unterschieden sich jedoch nicht wesentlich zwischen 10 µg und 30 µg. Die neutralisierenden Antikörperreaktionen zwischen den beiden Impfstoffkandidaten gelten als ähnlich, obwohl kein formaler Vergleich durchgeführt wurde. Die Reaktionen auf die Impfstoffe waren im Vergleich zu einem Pool menschlicher Rekonvaleszenzseren in der Studie BNT162-001 höher. In beide Studien wurden Probanden im Alter von 55 Jahren und älter sowie jüngere Erwachsene einbezogen. Die Reaktionen bei älteren Menschen waren im Vergleich zu jüngeren Erwachsenen geringer, der Unterschied ist jedoch wahrscheinlich nicht klinisch relevant, auch wenn man den verzögerten Höhepunkt berücksichtigt.

Für BNT162b1 und BNT162b2 war die S1- und RBD-bindende IgG-Kinetik mit der Kinetik neutralisierender Antikörper vergleichbar, wobei die IgG-Konzentrationen in der älteren Altersgruppe niedriger waren als in der jüngeren Altersgruppe.

Die weitere Bewertung der Antikörperpersistenz ist im Gange. Die neutralisierenden Antikörpertiter werden bis zum Ende von 162 Tagen nach Dosis 2 für die Studie BNT162-01 und bis zu 2 Jahre für die Studie C459001 verfolgt. Der endgültige Studienbericht der Studie C4591001 wird erbeten, sobald er verfügbar ist (spezifische Verpflichtung).

Es werden auch durch den Impfstoff hervorgerufene Immunreaktionen gegen neu auftretende zirkulierende Stämme von SARS-CoV-2 untersucht. Im RMP enthaltene Wirksamkeitsstudien werden wichtig sein, um die Leistung des Impfstoffs beispielsweise im Falle mutierender Varianten zu verstehen.

Eine effiziente Neutralisierung von Spike-Protein-Mutanten, einschließlich RBD-Sequenzvarianten, wurde mit Seren von Teilnehmern der impfstoffimmunisierten Studie BNT162-01 beobachtet, was die Neutralisierungsbreite von impfstoffinduzierten polyklonalen Antikörpern demonstriert. Dies kann wichtig sein, wenn es um neu auftretende Varianten mit Mutationen in den Spike-Proteinen geht, z. B. die britische Variante, da der Impfstoff möglicherweise immer noch in der Lage ist, eine ausreichende Kreuzneutralisierung herbeizuführen.

Eine weitere Charakterisierung der Immunantworten wurde in die Studie BNT162-001 einbezogen. Zelluläre Immunantworten wurden anhand von IFNγ-produzierenden CD4- und CD8-T-Zellen nachgewiesen. Darüber hinaus wurde eine deutliche Th1-polarisierte Reaktion, d. h. IFNγ/IL-2-ICS und begrenzte IL-4-ICS, gezeigt, was im Hinblick auf das Fehlen von VAED beruhigend ist. Bei der mit BNT162b2 geimpften Kohorte mit 30 µg-Dosis zeigten die CD4- und CD8-Zytokinreaktionen bei Erwachsenen und älteren Erwachsenen die gleiche Intensität, wohingegen bei der mit BNT162b1 geimpften Kohorte mit 30 µg-Dosis die RBD-spezifischen IL-2-produzierenden CD4+- und CD8+-T-Zellen reduziert waren bei älteren Erwachsenen.

2.4.5. Schlussfolgerungen zur klinischen Pharmakologie

Die Daten zur Immunantwort stützen insgesamt die Wahl des Impfstoffkandidaten BNT162b2 und die Wahl eines Zwei-Dosen-Schemas von 30 µg. Es wird erbeten, den endgültigen Studienbericht der Studie C4591001 einzureichen, sobald er verfügbar ist (spezifische Verpflichtung), einschließlich Daten zur Persistenz der Immunantworten.

2.5. Klinische Wirksamkeit

2.5.1. Dosis-Wirkungs-Studie

Siehe Abschnitt 2.4.3.

2.5.2. Hauptstudium

Titel des Studiums

Studie C4951001: Eine placebokontrollierte, randomisierte, beobachterblinde Dosisfindungsstudie der Phase 1/2/3 zur Bewertung der Sicherheit, Verträglichkeit, Immunogenität und Wirksamkeit von SARS-COV-2-RNA-Impfstoffkandidaten gegen COVID-19 in Gesunde Menschen

Methoden

Studienteilnehmer

Haupteinschlusskriterien:

- Männliche oder weibliche Teilnehmer im Alter zwischen 18 und 55 Jahren (einschließlich) und 65 und 85 Jahren (einschließlich) (Phase 1) oder ≥12 Jahren (Phase 2/3) zum Zeitpunkt der Randomisierung.
- Gesunde Teilnehmer mit vorbestehender stabiler Erkrankung, definiert als eine Erkrankung, die keine wesentliche Änderung der Therapie oder einen Krankenhausaufenthalt wegen einer Verschlechterung der Erkrankung während der 6 Wochen erfordert

vor der Einschreibung, könnte einbezogen werden. Potenzielle Teilnehmer mit einer chronisch stabilen HIV-, HCV- oder HBV-Infektion können für die Aufnahme in Betracht gezogen werden, wenn sie die im Protokoll festgelegten Kriterien erfüllen.

- Nur Phase 2/3: Teilnehmer, bei denen nach Einschätzung des Prüfarztes ein höheres Risiko für die Ansteckung mit COVID-19 bestand (einschließlich, aber nicht beschränkt auf die Nutzung von Massentransportmitteln, relevante demografische Merkmale und wichtige Arbeitskräfte an vorderster Front).
- In der Lage, eine persönliche, unterschriebene Einverständniserklärung abzugeben/Eltern/Erziehungsberechtigte haben, die in der Lage sind, eine unterschriebene Einverständniserklärung abzugeben

Ausschlusskriterien:

- Andere medizinische oder psychiatrische Erkrankungen, einschließlich kürzlich aufgetretener oder aktiver Selbstmordgedanken/-verhaltensweisen oder Laboranomalien, die das Risiko einer Studienteilnahme erhöhten oder nach Einschätzung des Prüfarztes dazu führten, dass der Teilnehmer für die Studie ungeeignet war.
- Vorgeschichte schwerer Nebenwirkungen im Zusammenhang mit einem Impfstoff und/oder schwerer allergischer Reaktion auf einen Bestandteil der Studienintervention.
- Erhalt von Medikamenten zur Vorbeugung von COVID-19.
- Frühere klinische oder mikrobiologische Diagnose von COVID-19.
- Immungeschwächte Personen mit bekannter oder vermuteter Immunschwäche, festgestellt durch Anamnese und/oder Labor-/körperliche Untersuchung.
- Blutungsdiathese oder Zustand, der mit längerer Blutung einhergeht und nach Ansicht des Prüfarztes eine intramuskuläre Injektion kontraindizieren würde.
- Frauen, die schwanger sind oder stillen.
- Vorherige Impfung mit einem beliebigen Coronavirus-Impfstoff.
- Personen, die eine Behandlung mit immunsuppressiver Therapie, einschließlich Zytostatika oder systemischen Kortikosteroiden, z. B. wegen Krebs oder einer Autoimmunerkrankung, erhalten haben oder die während der gesamten Studie eine Behandlung geplant haben. Wenn systemische Kortikosteroide kurzfristig (<14 Tage) zur Behandlung einer akuten Erkrankung verabreicht wurden, sollten die Teilnehmer erst dann in die Studie aufgenommen werden, wenn die Kortikosteroidtherapie vor der Verabreichung der Studienintervention mindestens 28 Tage lang abgesetzt worden war. Inhalierte/vernebelte, intraartikuläre, intrabursale oder topische (Haut oder Augen) Kortikosteroide waren zulässig.
- Erhalt von Blut-/Plasmaprodukten oder Immunglobulin ab 60 Tagen vor der Verabreichung der Studienintervention oder geplanter Erhalt während der gesamten Studie.
- Teilnahme an anderen Studien mit Studienintervention innerhalb von 28 Tagen vor Studienbeginn und/oder während der Studienteilnahme
- Frühere Teilnahme an anderen Studien, die Studieninterventionen mit Lipid-Nanopartikeln beinhalteten.

Behandlungen

Der für die Phase-2/3-Bewertung ausgewählte Impfstoffkandidat war BNT162b2 in einer Dosis von 30 µg. In Phase 2/3 wurden die Teilnehmer 1:1 randomisiert und erhielten Impfstoff oder Placebo, normale Kochsalzlösung (0,9 % Natriumchloridlösung zur Injektion). Die Injektion erfolgte sowohl für den Impfstoff als auch für das Placebo intramuskulär.

Die verfügbaren Daten zur Sicherheit, Wirksamkeit und Immunogenität beziehen sich auf Impfstoffe, die gemäß dem Herstellungsverfahren für Chargen klinischer Studien hergestellt wurden.

Der Umfang der BNT162b2-Herstellung wurde erhöht, um die zukünftige Versorgung zu unterstützen. BNT162b2, das mithilfe des Herstellungsprozesses erzeugt wird, der ein erhöhtes Angebot unterstützt (kommerzieller Prozess), wird in der Studie an etwa 250 Teilnehmer im Alter von 16 bis 55 Jahren pro Charge verabreicht. Daten werden für Februar 2021 erwartet. Informationen zur Vergleichbarkeit von klinischen Chargen und kommerziellen Chargen finden Sie im Abschnitt „Qualität".

Ziele

Die Ergebnisse der primären Wirksamkeitsziele wurden in den in diesem Antrag eingereichten klinischen Studienbericht aufgenommen. Ergebnisse der sekundären Ziele werden im Laufe des Jahres 2021 erwartet.

Primäre Wirksamkeitsziele

- Bewertung der Wirksamkeit von prophylaktischem BNT162b2 gegen bestätigtes COVID-19, das 7 Tage nach der zweiten Dosis bei Teilnehmern ohne Anzeichen einer Infektion vor der Impfung auftritt
- Bewertung der Wirksamkeit von prophylaktischem BNT162b2 gegen bestätigtes COVID-19, das 7 Tage nach der zweiten Dosis bei Teilnehmern mit und ohne Anzeichen einer Infektion vor der Impfung auftritt

Primäre Sicherheitsziele

- Definition des Sicherheitsprofils von prophylaktischem BNT162b2 bei den ersten 360 randomisierten Teilnehmern (Phase 2)
- Um das Sicherheitsprofil von prophylaktischem BNT162b2 bei allen in Phase 2/3 randomisierten Teilnehmern zu definieren
- Definition des Sicherheitsprofils von prophylaktischem BNT162b2 bei Teilnehmern im Alter von 12 bis 15 Jahren in Phase 3

Sekundäre Wirksamkeitsziele

- Bewertung der Wirksamkeit von prophylaktischem BNT162b2 gegen bestätigtes COVID-19, das 14 Tage nach der zweiten Dosis bei Teilnehmern ohne Anzeichen einer Infektion vor der Impfung auftritt
- Bewertung der Wirksamkeit von prophylaktischem BNT162b2 gegen bestätigtes COVID-19, das 14 Tage nach der zweiten Dosis bei Teilnehmern mit und ohne Anzeichen einer Infektion vor der Impfung auftritt
- Bewertung der Wirksamkeit von prophylaktischem BNT162b2 gegen bestätigtes schweres COVID-19, das 7 Tage und 14 Tage nach der zweiten Dosis bei Teilnehmern ohne Anzeichen einer Infektion vor der Impfung auftritt
- Bewertung der Wirksamkeit von prophylaktischem BNT162b2 gegen bestätigtes schweres COVID-19, das 7 Tage und 14 Tage nach der zweiten Dosis bei Teilnehmern mit und ohne Anzeichen einer Infektion vor der Impfung auftritt
- Beschreibung der Wirksamkeit von prophylaktischem BNT162b2 gegen bestätigtes COVID-19 (gemäß den von der CDC definierten Symptomen), das 7 Tage und 14 Tage nach der zweiten Dosis bei Teilnehmern ohne Anzeichen einer Infektion vor der Impfung auftritt

- Beschreibung der Wirksamkeit von prophylaktischem BNT162b2 gegen bestätigtes COVID-19 (gemäß den von der CDC definierten Symptomen), das 7 Tage und 14 Tage nach der zweiten Dosis bei Teilnehmern mit und ohne Anzeichen einer Infektion vor der Impfung auftritt.

Sekundäre Immunogenitätsziele

- Um die Nichtunterlegenheit der Immunantwort auf prophylaktisches BNT162b2 bei Teilnehmern im Alter von 12 bis 15 Jahren im Vergleich zu Teilnehmern im Alter von 16 bis 25 Jahren zu demonstrieren (Daten nicht in diesem Bericht enthalten)

Explorationsziele

- Zur Bewertung der Immunantwort im Zeitverlauf auf prophylaktisches BNT162b2 und der Persistenz der Immunantwort bei Teilnehmern mit und ohne serologischen oder virologischen Nachweis einer SARS-CoV-2-Infektion vor der Impfung
- Zur Bewertung der Immunantwort (Nicht-S) auf SARS-CoV-2 bei Teilnehmern mit und ohne bestätigtem COVID-19 während der Studie
- Beschreibung der serologischen Reaktionen auf den BNT-Impfstoffkandidaten in folgenden Fällen:

  - Bestätigtes COVID-19

  - Bestätigter schwerer COVID-19-Verlauf

  - SARS-CoV-2-Infektion ohne bestätigtes COVID-19
- Beschreibung der Sicherheit, Immunogenität und Wirksamkeit von prophylaktischem BNT162b2 bei Personen mit bestätigter stabiler HIV-Erkrankung
- Beschreibung der Sicherheit und Immunogenität von prophylaktischem BNT162b2 bei Personen im Alter von 16 bis 55 Jahren, die mit einer Studienintervention geimpft wurden, die durch zwei verschiedene Herstellungsverfahren hergestellt wurde (siehe unter Behandlung).

Ergebnisse/Endpunkte

Immunogenität

Eine Beschreibung der in Phase 1 und 2 dieser Studie verwendeten immunologischen Methoden finden Sie im Abschnitt zur Pharmakodynamik. Dieselben Methoden werden auch in Phase 3 verwendet, Ergebnisse liegen jedoch noch nicht vor.

Primäre Wirksamkeitsendpunkte

Erster primärer Endpunkt : COVID-19-Inzidenz pro 1000 Personenjahre Nachbeobachtung bei Teilnehmern ohne serologische oder virologische Hinweise auf eine frühere SARS-CoV-2-Infektion vor und während der Impfung – bestätigte Fälle ≥7 Tage nach Dosis 2.

Zweiter primärer Endpunkt : COVID-19-Inzidenz pro 1000 Personenjahre Nachbeobachtung bei Teilnehmern mit und ohne Anzeichen einer früheren SARS-CoV-2-Infektion vor und während der Impfung – bestätigte Fälle ≥7 Tage nach Dosis 2.

Sekundäre Wirksamkeitsendpunkte

COVID-19 wurde mindestens 14 Tage nach Dosis 2 bestätigt : COVID-19-Inzidenz pro 1000 Personenjahre Nachbeobachtung bei Teilnehmern entweder (1) ohne oder (2) mit und ohne serologischen oder virologischen Nachweis einer früheren SARS-CoV-2-Infektion vor und während der Impfung – bestätigte Fälle ≥14 Tage nach Dosis 2.

Schwerer COVID-19 : Inzidenz pro 1000 Personenjahre Nachbeobachtung bei Teilnehmern entweder (1) ohne oder (2) mit und ohne Nachweis einer früheren SARS-CoV-2-Infektion vor und während der Impfung – bestätigte Fälle entweder (1) ≥7 Tage danach Dosis 2 oder (2) ≥14 Tage nach Dosis 2.

COVID-19-Falldefinitionen

Teilnehmer, bei denen potenzielle COVID-19-Symptome auftraten, sollten sich umgehend mit dem Standort in Verbindung setzen und, falls bestätigt, so bald wie möglich (innerhalb von 3 Tagen nach Auftreten der Symptome und spätestens 4 Tage nach Abklingen der Symptome) an einem persönlichen oder telemedizinischen Besuch teilnehmen). Bei dem Besuch (oder vor dem Besuch, wenn ein Selbstabstrich verwendet wurde) sollten die Prüfer klinische Informationen und Ergebnisse von lokalen Standarduntersuchungen sammeln, die ausreichten, um eine COVID-19-Diagnose zu bestätigen. Die Forscher sollten einen Nasenabstrich (mittlere Nasenmuschel) erhalten, um ihn in einem Zentrallabor mit einem validierten Reverse-Transkriptase-Kettenreaktionstest (RT-PCR) (Cepheid; von der FDA gemäß EUA zugelassen) zum Nachweis von SARS-CoV-2 zu testen. Wenn die Auswertung per Telemedizin durchgeführt wurde, musste der Teilnehmer selbst einen Nasenabstrich entnehmen und ihn zur Beurteilung an das Zentrallabor senden. Das Ergebnis eines lokalen Nukleinsäureamplifikationstests (NAAT) war nur dann akzeptabel, wenn es den im Protokoll festgelegten Kriterien entsprach und kein zentrales Laborergebnis verfügbar war.

Es werden zwei Definitionen von SARS-CoV-2-bedingten Fällen und SARS-CoV-2-bedingten schweren Fällen berücksichtigt (bei beiden ist das Datum des Beginns des Falles das Datum, an dem die Symptome beim Teilnehmer erstmals auftraten; bei neuen Symptomen innerhalb von 4 Tagen nach Abklingen aller vorangegangenen Symptome gemeldet werden, werden sie als Teil einer einzelnen Krankheit betrachtet):

Bestätigtes COVID-19 (definiert für FDA-Richtlinien): Vorhandensein von mindestens einem der folgenden Symptome und SARS-CoV-2 NAAT-positiv während oder innerhalb von 4 Tagen vor oder nach der symptomatischen Periode, entweder im Zentrallabor oder in einer örtlichen Testeinrichtung (unter Verwendung eines akzeptablen Tests):

- Fieber;
- Neuer oder verstärkter Husten;
- Neue oder verstärkte Atemnot;
- Schüttelfrost;
- Neue oder verstärkte Muskelschmerzen;
- Neuer Geschmacks- oder Geruchsverlust;
- Halsentzündung;
- Durchfall;
- Erbrechen.

Die zweite Definition, die möglicherweise aktualisiert wird, sobald mehr über COVID-19 bekannt wird, umfasst die folgenden zusätzlichen, vom CDC definierten Symptome:

- Ermüdung;
- Kopfschmerzen;
- Verstopfte Nase oder laufende Nase;
- Brechreiz.

Bestätigter schwerer COVID-19-Verlauf : bestätigtes COVID-19 und Vorliegen von mindestens einem der folgenden Symptome:

- Klinische Ruhesymptome, die auf eine schwere systemische Erkrankung hinweisen (RR ≥ 30 Atemzüge pro Minute, Herzfrequenz ≥ 125 Schläge pro Minute, SpO_2 ≤ 93 % der Raumluft auf Meereshöhe oder PaO_2/FiO_2 < 300 mm Hg);

- Atemversagen (definiert als Bedarf an High-Flow-Sauerstoff, nicht-invasiver Beatmung, mechanischer Beatmung oder ECMO);
- Anzeichen eines Schocks (SBP <90 mm Hg, DBP <60 mm Hg oder Bedarf an Vasopressoren);
- Erhebliche akute Nieren-, Leber- oder neurologische Funktionsstörung;
- Aufnahme auf eine Intensivstation;
- Tod.

Darüber hinaus wurden Hinweise auf eine frühere Infektion durch virologische Tests mittels NAAT an einem Abstrich aus der Mitte der Nasenmuschel und serologische Tests auf IgG gegen das SARS-CoV-2-N-Antigen ermittelt. Für Teilnehmer ohne klinisches Erscheinungsbild von COVID-19 wird eine serologische Definition verwendet:

- Bestätigte Serokonversion zu SARS-CoV-2 ohne bestätigtes COVID-19: positives N-bindendes Antikörper-Ergebnis bei einem Teilnehmer mit einem vorherigen negativen N-bindenden Antikörper-Ergebnis.

Darüber hinaus wurde eine frühere Infektion mit SARS-CoV-2 auch bei Dosis 2 (NAAT) bewertet und wird für einen Zeitraum von bis zu 24 Monaten evaluiert. Der Zweck besteht darin, die Beständigkeit der Wirksamkeit zu beurteilen, die Wirksamkeit gegen asymptomatische SARS-CoV-2-Infektionen zu untersuchen und die Sicherheit sowohl bei seronegativen als auch bei seropositiven Teilnehmern zu gewährleisten.

Probengröße

Für Phase 2/3, mit der Annahme eines tatsächlichen VE von 60 % nach der zweiten Dosis des Prüfpräparats, ergeben insgesamt etwa 164 erste bestätigte COVID-19-Erkrankungsfälle eine Aussagekraft von 90 %, um mit hoher Wahrscheinlichkeit auf einen tatsächlichen VE > 30 % zu schließen Dies ermöglicht ein frühzeitiges Absetzen für die Wirksamkeit bei der IA. Dies würde mit 17.600 auswertbaren Teilnehmern pro Gruppe oder 21.999 im Verhältnis 1:1 mit Placebo randomisierten Impfstoffempfängern erreicht, was einer Gesamtstichprobengröße von 43.998 entspricht, basierend auf der Annahme einer Krankheitsrate von 1,3 % pro Jahr in der Placebogruppe von 164 Fällen mit erstem primären Endpunkt innerhalb von 6 Monaten und 20 % der Teilnehmer waren nicht auswertbar oder hatten serologische Hinweise auf eine frühere Infektion mit SARS-CoV-2, was sie möglicherweise immun gegen weitere Infektionen macht. Abhängig von der Entwicklung der Pandemie ist es möglich, dass die COVID-19-Angriffsrate viel höher ist. In diesem Fall wäre mit einem schnelleren Anstieg zu rechnen, sodass der primäre Endpunkt der Studie viel früher bewertet werden kann.

Randomisierung und Verblindung (Maskierung)

Die Zuordnung der Teilnehmer zu Impfgruppen erfolgte mithilfe eines IRT-Systems (IWR). Die Teilnehmer wurden im Verhältnis 1:1 randomisiert einer aktiven Impfung oder einem Placebo zugeteilt.

Die Studie umfasste Teilnehmer im Alter von ≥ 12 Jahren, geschichtet wie folgt: 12 bis 15, 16 bis 55 Jahre oder > 56 Jahre. Es war vorgesehen, dass mindestens 40 % der Teilnehmer im Stratum >56 Jahre eingeschrieben sein sollten.

Das Studienpersonal, das die Studieninterventionen entgegennahm, lagerte, ausgab, vorbereitete und verwaltete, war nicht verblindet. Alle anderen Studien- und Standortmitarbeiter, einschließlich des Prüfarztes, des Prüfpersonals und der Teilnehmer, waren hinsichtlich der Studieninterventionsaufgaben blind.

Ausnahmen von der Verblindung, beispielsweise für DMC-Aktivitäten, wurden beschrieben und für akzeptabel befunden.

Methoden zur Wirksamkeitsanalyse

Während der Phase 2/3 wurden im Protokoll vorläufige Analysen festgelegt, die nach der Ansammlung von mindestens 62, 92 und 120 auswertbaren COVID-19-Fällen durchgeführt werden sollten, wobei eine überwältigende Wirksamkeit festgestellt werden konnte, wenn der primäre Endpunkt mit einem posterioren Ergebnis erreicht wurde Wahrscheinlichkeit, dass der wahre VE > 30 % ist (d. h. Pr[VE > 30 %|Daten] >99,5 % bei einer Zwischenanalyse oder >98,6 % bei der Endanalyse). Die Erfolgsschwelle für jede Zwischenanalyse wurde so kalibriert, dass ein Gesamtfehler vom Typ I bei 2,5 % liegt. Auch die Sinnlosigkeit wurde bewertet und die Studie könnte wegen fehlendem Nutzen abgebrochen werden, wenn die vorhergesagte Wahrscheinlichkeit, die Wirksamkeit des Impfstoffs bei der Endanalyse nachzuweisen, bei einer der ersten beiden geplanten Zwischenanalysen <5 % betrug. Wirksamkeits- und Sinnlosigkeitsgrenzen wurden unverbindlich angewendet. Die Berechnung der A-Posteriori-Wahrscheinlichkeit und des Glaubwürdigkeitsintervalls wurden an die Überwachungszeit angepasst. Für Subgruppenanalysen des primären Wirksamkeitsendpunkts wurde ein zweiseitiges 95 %-Konfidenzintervall (KI) berechnet. VE ist definiert als 100 % × (1 – IRR), wobei das Krankheitsratenverhältnis (IRR) als Verhältnis der ersten bestätigten COVID-19-Erkrankungsrate in der Impfstoffgruppe zur entsprechenden Krankheitsrate in der Placebogruppe berechnet wird. VE wird nachgewiesen, wenn es überzeugende Beweise dafür gibt (d. h. die A-Posteriori-Wahrscheinlichkeit größer als 99,5 % bei einer Zwischenanalyse oder größer als 98,6 % bei der Endanalyse), dass die wahre VE von BNT162b2 unter Verwendung eines Beta-Binomialmodells > 30 % beträgt, wobei VE stellt die Wirksamkeit für die Prophylaxe von BNT162b2 gegen bestätigtes COVID-19 bei Teilnehmern ohne Anzeichen einer früheren SARS-CoV-2-Infektion vor und während der Impfung dar. Teilnehmer mit positiven oder unbekannten NAAT-Ergebnissen bei einem Krankheitstermin vor 7 Tagen nach Dosis 2 wurden nicht in die Bewertung für VE einbezogen. Die Fälle wurden ab 7 Tagen nach Dosis 2 gezählt.

Die Zwischenanalyse wurde nur für den ersten primären Wirksamkeitsendpunkt durchgeführt. Weitere für die Zwischenanalyse analysierte Wirksamkeitsdaten wurden mit deskriptiven zusammenfassenden Statistiken zusammengefasst, einschließlich der COVID-19-Fallzahlen in der BNT162b2- und der Placebo-Gruppe auf der Grundlage von:

- Nachweis einer früheren SARS-CoV-2-Infektion zu Studienbeginn per NAAT- oder N-Antigen-Bindungstest
- Untergruppenstatus (d. h. Alter, Geschlecht, Rasse, ethnische Zugehörigkeit, SARS-CoV-2-Ausgangsstatus)
- COVID-19-Fälle, die die Protokollkriterien erfüllen, gelten nach der ersten und zweiten Dosis als schwerwiegend.

Bei der ersten Zwischenanalyse wurden überwältigende Erfolgskriterien für die Wirksamkeit erfüllt, sodass keine weiteren formellen Zwischenanalysen durchgeführt wurden. Die endgültige Analyse aller im Protokoll festgelegten primären und sekundären Wirksamkeitsendpunkte wurde im Protokoll vorab festgelegt und soll nach der endgültigen Anzahl von COVID-19-Fällen (mindestens 164 Fälle) durchgeführt werden. Subgruppenanalysen von VE wurden für die primären Endpunkte und den sekundären Endpunkt schwerer COVID-19-Fälle durchgeführt. Zusätzliche Post-hoc-Analysen von Untergruppen, die durch die Bewertung des Komorbiditätsrisikos definiert wurden, wurden durchgeführt. Die sekundäre Wirksamkeit wurde auf die gleiche Weise wie die primäre Wirksamkeit analysiert (Abschnitt 2.5.4.1.2.2), wobei die Falldefinitionen für schweres COVID-19 und die CDC-Kriterien für COVID-19 verwendet wurden

statistische Methoden

Die Schätzungen zur Bewertung der Wirksamkeitsziele basierten auf auswertbaren Wirksamkeitspopulationen. Diese Schätzungen schätzen die Impfwirkung in der hypothetischen Situation, in der die Teilnehmer die Studienpläne und Protokollanforderungen wie angewiesen befolgen. Darüber hinaus wurde VE auch anhand aller verfügbaren Wirksamkeitspopulationen analysiert.

Die auswertbare Wirksamkeitspopulation umfasste alle berechtigten randomisierten Teilnehmer, die alle Impfungen wie randomisiert erhielten, wobei Dosis 2 innerhalb des vordefinierten Zeitfensters (19–42 Tage nach Dosis 1) verabreicht wurde und keine weiteren wichtigen Protokollabweichungen auftraten, wie vom Kliniker festgestellt oder vor 7 Tagen nach Dosis 2. Dies war die primäre Analysepopulation für alle Wirksamkeitsanalysen. Es wurden auch zusätzliche Analysen durchgeführt, die auf allen verfügbaren Wirksamkeitspopulationen basierten, einschließlich aller randomisierten Teilnehmer, die jeweils eine bzw. zwei Impfdosen abgeschlossen hatten.

Die beiden primären Endpunkte wurden hierarchisch getestet. Wichtige sekundäre Wirksamkeitsendpunkte wurden nach Erreichen der primären Endpunkte nacheinander in einer vorgegebenen Reihenfolge bewertet. Fehlende Daten wurden weder für die Primär- noch für die Sekundäranalyse unterstellt. Für den primären Endpunkt wurde eine Sensitivitätsanalyse fehlender Labordaten mit MNAR-Annahme durchgeführt.

VE wurde wie folgt geschätzt: 100 × (1 – IRR), wobei IRR das berechnete Verhältnis der bestätigten COVID-19-Erkrankung pro 1000 Personenjahre Nachbeobachtung in der aktiven Impfstoffgruppe zur entsprechenden Krankheitsrate in der Placebogruppe ab 7 ist Tage nach der zweiten Dosis.

Für den primären und sekundären Endpunkt wurde ein Bayes'scher Ansatz verwendet. Für θ = (1-VE)/(2-VE) wurde ein Beta-Priori-Wert, Beta (0,700102, 1), verwendet. Der Prior war bei θ = 0,4118 (VE = 30 %) zentriert. Das 95 %-Intervall für θ beträgt (0,005, 0,964) und das entsprechende vorherige 95 %-Intervall für VE beträgt (-26,2, 0,995). Der Bayes'sche Ansatz wurde für die Punktschätzung für VE nicht verwendet. Bei der abschließenden Analyse sollte die Wirksamkeit erklärt werden, wenn die A-posteriori-Wahrscheinlichkeit einer VE größer oder gleich 30 % („p") > 98,60 % ist.

Während der Phase 2/3 waren 4 Zwischenanalysen (IAs) geplant, die von einem nicht verblindeten Statistikteam nach der Erfassung von mindestens 32, 62, 92 und 120 Fällen durchgeführt werden sollten. Die endgültige Analyse sollte durchgeführt werden, als 164 Fälle beobachtet wurden. Es wurde jedoch nur eine Zwischenanalyse von 94 Fällen durchgeführt. Die abschließende Analyse wurde mit 170 Fällen durchgeführt. Zum Zeitpunkt der Folgenabschätzungen war geplant, Sinnlosigkeit und VE in Bezug auf den ersten primären Endpunkt zu bewerten. Die durchgeführte Folgenabschätzung war erfolgreich, ebenso wie die abschließende Analyse, und die Ergebnisse stimmten mit der Folgenabschätzung überein.

Die Erfolgsschwelle für jede Zwischenanalyse sollte so kalibriert werden, dass der Gesamtfehler Typ I bei 2,5 % liegt. Das Risiko, mit dem vorgeschlagenen Bayes'schen Modell und über die Zwischenanalysen und die Endanalyse unter der Annahme einer Impfstoffwirksamkeit von 30 % fälschlicherweise zu dem Schluss zu kommen, dass die VE über 30 % liegt (die Fehlerquote vom Typ I), beträgt 0,021 (einseitig). Daher wird die Fehlerrate vom Typ I für den primären Endpunkt kontrolliert. Obwohl nur eine Zwischenanalyse durchgeführt wurde, wurde der Gesamtfehler vom Typ I (Gesamterfolgswahrscheinlichkeit bei echtem VE = 30 %) mit den ursprünglich vorgeschlagenen Erfolgs-/Vergeblichkeitsgrenzen auf 0,025 kontrolliert.

Obwohl die Bayes'sche Analyse in entscheidenden Studien normalerweise nicht als bestätigender Beweis akzeptiert wird, macht das Ausmaß des Effekts in dieser Studie diese Bedenken überflüssig. Daher gelten die Schlussfolgerungen der Schlussfolgerung als robust.

Ergebnisse

Disposition aller randomisierten Probanden – ~38.000 Probanden für Phase-2/3-Analyse

	Vaccine Group (as Randomized)		
	BNT162b2 (30 µg) (N[a]=18904) n[b] (%)	Placebo (N[a]=18892) n[b] (%)	Total (N[a]=37796) n[b] (%)
Randomized	18904 (100.0)	18892 (100.0)	37796 (100.0)
Not vaccinated	46 (0.2)	43 (0.2)	89 (0.2)
Vaccinated			
Dose 1	18858 (99.8)	18849 (99.8)	37707 (99.8)
Dose 2	18555 (98.2)	18533 (98.1)	37088 (98.1)
Completed 1-month post–Dose 2 visit (vaccination period)	16902 (89.4)	16804 (88.9)	33706 (89.2)
Discontinued from vaccination period but continue in the study	121 (0.6)	111 (0.6)	232 (0.6)
Discontinued after Dose 1 and before Dose 2	121 (0.6)	107 (0.6)	228 (0.6)

Discontinued after Dose 2 and before 1-month post–Dose 2 visit	0	4 (0.0)	4 (0.0)
Reason for discontinuation from vaccination period			
No longer meets eligibility criteria	48 (0.3)	81 (0.4)	129 (0.3)
Withdrawal by subject	45 (0.2)	9 (0.0)	54 (0.1)
Adverse event	20 (0.1)	12 (0.1)	32 (0.1)
Pregnancy	4 (0.0)	4 (0.0)	8 (0.0)
Physician decision	2 (0.0)	1 (0.0)	3 (0.0)
Lost to follow-up	0	2 (0.0)	2 (0.0)
Medication error without associated adverse event	0	1 (0.0)	1 (0.0)
Other	2 (0.0)	1 (0.0)	3 (0.0)
Withdrawn from the study	180 (1.0)	259 (1.4)	439 (1.2)
Withdrawn after Dose 1 and before Dose 2	132 (0.7)	164 (0.9)	296 (0.8)
Withdrawn after Dose 2 and before 1-month post–Dose 2 visit	44 (0.2)	84 (0.4)	128 (0.3)
Withdrawn after 1-month post–Dose 2 visit	4 (0.0)	11 (0.1)	15 (0.0)
Reason for withdrawal from the study			
Withdrawal by subject	84 (0.4)	157 (0.8)	241 (0.6)
Lost to follow-up	80 (0.4)	86 (0.5)	166 (0.4)
Adverse event	8 (0.0)	5 (0.0)	13 (0.0)
Death	2 (0.0)	3 (0.0)	5 (0.0)
Physician decision	1 (0.0)	2 (0.0)	3 (0.0)
No longer meets eligibility criteria	1 (0.0)	2 (0.0)	3 (0.0)
Medication error without associated adverse event	1 (0.0)	0	1 (0.0)
Refused further study procedures	0	1 (0.0)	1 (0.0)
Other	3 (0.0)	3 (0.0)	6 (0.0)

Hinweis: 1 Proband wurde randomisiert, unterzeichnete jedoch keine Einverständniserklärung und ist in keiner Analysepopulation enthalten. Hinweis: Aufgrund eines Dosierungsfehlers erhielten 2 Probanden eine zusätzliche Dosis BNT162b2 (30 µg) und eine Dosis Placebo
Hinweis: HIV-positive Probanden sind in dieser Zusammenfassung enthalten, jedoch nicht in der Analyse der allgemeinen Studienziele.
A. N = Anzahl der randomisierten Probanden in der angegebenen Gruppe oder Gesamtstichprobe. Dieser Wert ist der Nenner für die Prozentberechnungen
B. n=Anzahl der Probanden mit den spezifischen Merkmalen

Rekrutierung

Diese Studie ist noch nicht abgeschlossen und die Teilnehmer werden weiterhin in Phase 3 eingeschrieben und bewertet.

Betreff Erster Besuch: 29. April 2020

Datenschlusstermine:

- 24. August 2020 (Sicherheits- und Immunogenitätsdaten der Phase 1 bis 1 Monat nach Dosis 2)
- 02. September 2020 (Sicherheitsdaten der Phase 2 nur 7 Tage nach Dosis 2)
- 06. Oktober 2020 (Sicherheitsdaten der Phase 2/3 1 Monat nach Dosis 2 für die ersten 6610 Teilnehmer und verfügbare Sicherheitsdaten für alle 36.855 Teilnehmer)
- 04. November 2020 (Phase 2/3, erste Zwischenanalyse zur Wirksamkeit bei 94 Fällen)

Infolgedessen wurden 44.822 Probanden eingeschrieben und 43.386 Probanden in 153 Zentren in 6 Ländern weltweit randomisiert, darunter: USA (131 Zentren, 33.068 Probanden), Argentinien (1 Standort, 5.776 Probanden), Brasilien (2 Standorte, 2.900 Probanden), Türkei (9 Standorte, 342 Probanden), Südafrika (4 Standorte, 800 Probanden) und Deutschland (6 Standorte, 500 Probanden).

Durchführung der Studie

Diese Studie hat umfangreiche Änderungen oder Ergänzungen erfahren. Die Änderungen der Phase 1 der Studie gelten als akzeptabel für ein Dosisfindungsdesign. Protokolländerungen, die die Phase 3 der Studie betreffen, sind insgesamt ausreichend begründet und akzeptabel, da sie voraussichtlich keine Auswirkungen auf die Schlussfolgerungen zur Wirksamkeit haben. Die wichtigsten Änderungen haben die Einbeziehung von Jugendlichen im Alter von 12 bis 15 Jahren in die Studie ermöglicht und entsprechende Ziele hinzugefügt. Darüber hinaus wurden sekundäre Wirksamkeitsendpunkte hinzugefügt, um COVID-19-Fälle einzuschließen, die 14 Tage nach der zweiten Dosis auftraten. Der SAP wurde im Einklang mit Protokolländerungen zweimal geändert.

Basisdaten

Insgesamt waren die demografischen Merkmale zwischen den Studiengruppen gut ausgewogen.

Demografische Daten (Bevölkerung für den primären Wirksamkeitsendpunkt)A

	Comirnaty (N=18.242) N (%)	**Placebo (N=18.379) N (%)**
Sex		
Männlich	9318 (51,1)	9225 (50,2)
Weiblich	8924 (48,9)	9154 (49,8)
Alter Jahre)		
Mittelwert (SD)	50,6 (15,70)	50,4 (15,81)
Median	52,0	52,0
Minimal Maximal	(12, 89)	(12, 91)
Altersgruppe		
≥12 bis 15 Jahre	46 (0,3)	42 (0,2)
≥16 bis 17 Jahre	66 (0,4)	68 (0,4)
≥16 bis 64 Jahre	14.216 (77,9)	14.299 (77,8)
≥65 bis 74 Jahre	3176 (17,4)	3226 (17,6)
≥75 Jahre	804 (4,4)	812 (4,4)
75 bis 85 Jahre	799 (4,4)	807 (4,4)
> 85 Jahre	5 (0,0)	5 (0,0)
Wettrennen		
Weiß	15.110 (82,8)	15.301 (83,3)
Schwarzer oder Afroamerikaner	1617 (8,9)	1617 (8,8)
Indianer oder Alaska-Ureinwohner	118 (0,6)	106 (0,6)
asiatisch	815 (4,5)	810 (4,4)
Einheimischer Hawaiianer oder anderer pazifischer Insulaner	48 (0,3)	29 (0,2)
AndereB	534 (2,9)	516 (2,8)
Ethnizität		
Hispanoamerikaner oder Latino	4886 (26,8)	4857 (26,4)
Kein Hispanoamerikaner oder Latino	13.253 (72,7)	13.412 (73,0)
Nicht gemeldet	103 (0,6)	110 (0,6)
KomorbiditätenC		
Ja	8432 (46,2)	8450 (46,0)
NEIN	9810 (53,8)	9929 (54,0)

A. Alle teilnahmeberechtigten randomisierten Teilnehmer, die alle Impfungen innerhalb des vordefinierten Fensters randomisiert erhalten, keine weiteren wichtigen Protokollabweichungen aufweisen, die vom Arzt festgestellt wurden, und vor 7 Tagen nach Dosis 2 keine Hinweise auf eine SARS-CoV-2-Infektion haben.

B. Beinhaltet gemischtrassige und nicht gemeldete Personen.

C. Anzahl der Teilnehmer, die eine oder mehrere Komorbiditäten haben, die das Risiko einer schweren COVID-19-Erkrankung erhöhen

- Chronische Lungenerkrankung (z. B. Emphysem und chronische Bronchitis, idiopathische Lungenfibrose und Mukoviszidose) oder mittelschweres bis schweres Asthma
- Signifikante Herzerkrankung (z. B. Herzinsuffizienz, koronare Herzkrankheit, angeborene Herzkrankheit, Kardiomyopathien und pulmonale Hypertonie)
- Fettleibigkeit (Body-Mass-Index ≥ 30 kg/m²).2)
- Diabetes (Typ 1, Typ 2 oder Schwangerschaftsdiabetes)
- Leber erkrankung
- Infektion mit dem humanen Immundefizienzvirus (HIV) (nicht in die Wirksamkeitsbewertung einbezogen)

Ausgangskomorbiditäten – Sicherheitspopulation 38.000 Probanden – bei der endgültigen Analyse:

Tisch . Ausgangswert der Charlson-Komorbiditäten ~ 3800 Probanden für Phase-2/3-Analyse – Sicherheitspopulation

Charlson Comorbidity Index Category	Vaccine Group (as Administered)		
	BNT162b2 (30 µg) (N[a]=18860) n[b] (%)	Placebo (N[a]=18846) n[b] (%)	Total (N[a]=37706) n[b] (%)
Subjects with any Charlson comorbidity	3934 (20.9)	3809 (20.2)	7743 (20.5)
AIDS/HIV	59 (0.3)	62 (0.3)	121 (0.3)
Any Malignancy	733 (3.9)	662 (3.5)	1395 (3.7)
Cerebrovascular Disease	195 (1.0)	166 (0.9)	361 (1.0)
Chronic Pulmonary Disease	1478 (7.8)	1453 (7.7)	2931 (7.8)
Congestive Heart Failure	88 (0.5)	83 (0.4)	171 (0.5)
Dementia	7 (0.0)	11 (0.1)	18 (0.0)
Diabetes With Chronic Complication	99 (0.5)	113 (0.6)	212 (0.6)
Diabetes Without Chronic Complication	1473 (7.8)	1478 (7.8)	2951 (7.8)
Hemiplegia or Paraplegia	13 (0.1)	21 (0.1)	34 (0.1)
Leukemia	12 (0.1)	10 (0.1)	22 (0.1)
Lymphoma	22 (0.1)	32 (0.2)	54 (0.1)
Metastatic Solid Tumor	4 (0.0)	3 (0.0)	7 (0.0)
Mild Liver Disease	125 (0.7)	89 (0.5)	214 (0.6)
Moderate or Severe Liver Disease	1 (0.0)	2 (0.0)	3 (0.0)
Myocardial Infarction	194 (1.0)	188 (1.0)	382 (1.0)
Peptic Ulcer Disease	52 (0.3)	71 (0.4)	123 (0.3)
Peripheral Vascular Disease	124 (0.7)	117 (0.6)	241 (0.6)
Renal Disease	123 (0.7)	133 (0.7)	256 (0.7)
Rheumatic Disease	62 (0.3)	56 (0.3)	118 (0.3)

Note: MedDRA (v23.1) coding dictionary applied.
Note: HIV-positive subjects are included in this summary but not included in the analyses of the overall study objectives.
a. N = number of subjects in the specified group. This value is the denominator for the percentage calculations.
b. n = Number of subjects with the specified characteristic. Subjects with multiple occurrences within each category are counted only once. For 'Subjects with any Charlson comorbidity', n = number of subjects reporting at least 1 occurrence of any Charlson comorbidity.
PFIZER CONFIDENTIAL SDTM Creation: 17NOV2020 (10:04) Source Data: admh Table Generation: 17NOV2020 (16:21) (Cutoff Date: 14NOV2020, Snapshot Date: 16NOV2020) Output File: ./nda2_unblinded/C4591001_IA_P3_2MPD2/admh_s002_risk_p3_saf

Die Studie schloss immungeschwächte Teilnehmer und solche aus, bei denen zuvor eine klinische oder mikrobiologische Diagnose von COVID-19 gestellt worden war. Teilnehmer mit bereits bestehender stabiler Erkrankung, definiert als Krankheit

Eingeschlossen wurden Teilnehmer, bei denen in den 6 Wochen vor der Einschreibung keine wesentliche Änderung der Therapie oder ein Krankenhausaufenthalt aufgrund einer Verschlechterung der Erkrankung erforderlich war, ebenso wie Teilnehmer mit einer bekannten stabilen Infektion mit dem humanen Immundefizienzvirus (HIV), dem Hepatitis-C-Virus (HCV) oder dem Hepatitis-B-Virus (HBV).

Zahlen analysiert

Die Anordnung der Wirksamkeitspopulationen ist in der folgenden Tabelle beschrieben. Es gab ein Ungleichgewicht zwischen den beiden Studiengruppen hinsichtlich der Anzahl der aus der auswertbaren Wirksamkeitspopulation ausgeschlossenen Probanden. Die beiden für dieses Ungleichgewicht verantwortlichen Gründe waren „Dosierungs-/Verabreichungsfehler, Proband erhielt nicht die richtige Impfstoffdosis“ (n=105 bei den Impfstoffen und n=3 bei Placebo) und „verabreichtes IP, das von Almac als nicht für die Verwendung geeignet erachtet wurde“ (n=144 bei Impfstoffen und n=0 bei Placebo). Für dieses Ungleichgewicht kann es mehrere Erklärungen geben, die im Folgenden aufgeführt sind:

- Da es sich bei dem Placebo um ein festes Volumen an Kochsalzlösung handelte und keine Verdünnung erforderlich war, war die Wahrscheinlichkeit eines Dosierungsfehlers in der Placebogruppe geringer als beim Impfstoff, der eine Verdünnung erforderte.
- Zu diesem Ungleichgewicht hat ein isolierter Dosierungs-/Verabreichungsfehler in einem klinischen Zentrum beigetragen, der eine größere Anzahl von Teilnehmern betraf, die BNT162b2 erhielten (n = 52 Teilnehmer).
- Almac war für die Bestimmung der Eignung für die Verwendung des Prüfprodukts verantwortlich, das einer Temperaturabweichung ausgesetzt war. Aufgrund der unterschiedlichen erforderlichen Lagerbedingungen (Umgebungstemperatur für das Placebo versus Ultrakälte für BNT162b2) stellten Temperaturschwankungen für das Placebo kein Problem dar, wohl aber für BNT162b2.

Das Protokoll war so konzipiert, dass, wenn bei einem Teilnehmer eines der angegebenen auslösenden Symptome auftritt, die auf COVID-19 hinweisen könnten, ein Besuch wegen einer möglichen COVID-19-Erkrankung stattfinden sollte, einschließlich der Entnahme eines Abstrichs für das Zentrallabor.

Tisch 4 Wirksamkeitspopulationen

	Impfstoffgruppe (wie randomisiert)		
	BNT162b2 (30 μg) NA(%)	Placebo NA(%)	Gesamt NA(%)
ZufälligB	21823 (100,0)	21828 (100,0)	43651 (100,0)
Dosis 1, Gesamtpopulation mit verfügbarer Wirksamkeit	21768 (99,7)	21783 (99,8)	43551 (99,8)
Probanden ohne Anzeichen einer Infektion vor Dosis 1. Probanden, die aus der Population mit der gesamten verfügbaren Wirksamkeit von Dosis 1 ausgeschlossen wurden. Grund für den AusschlussC	20314 (93,1) 55 (0,3)	20296 (93,0) 45 (0,2)	40610 (93,0) 100 (0,2)

Hat nicht mindestens eine Impfung erhalten. Hat	54 (0,2)	45 (0,2)	99 (0,2)
keine Einverständniserklärung abgegeben	1 (0,0)	0	1 (0,0)
Dosis 2: Gesamtpopulation mit verfügbarer Wirksamkeit	20566 (94,2)	20536 (94,1)	41102 (94,2)
Probanden ohne Anzeichen einer Infektion vor 7 Tagen nach Dosis 2 Probanden ohne	18701 (85,7)	18627 (85,3)	37328 (85,5)
Anzeichen einer Infektion vor 14 Tagen nach Dosis 2 Probanden, die aus der Population mit	18678 (85,6)	18563 (85,0)	37241 (85,3)
der gesamten verfügbaren Wirksamkeit von Dosis 2 ausgeschlossen wurden. Grund für den	1257 (5,8)	1292 (5,9)	2549 (5,8)
Ausschlussc			
Hat keine 2 Impfungen erhalten. Hat keine	1256 (5,8)	1292 (5,9)	2548 (5,8)
Einverständniserklärung abgegeben	1 (0,0)	0	1 (0,0)
Population mit auswertbarer Wirksamkeit (7 Tage).	20033 (91,8)	20244 (92,7)	40277 (92,3)
Probanden ohne Anzeichen einer Infektion vor 7 Tagen nach Dosis 2	18242 (83,6)	18379 (84,2)	36621 (83,9)
Population mit auswertbarer Wirksamkeit (14 Tage).	20033 (91,8)	20243 (92,7)	40276 (92,3)
Probanden ohne Anzeichen einer Infektion vor 14 Tagen nach Dosis 2 Probanden, die von der	18219 (83,5)	18315 (83,9)	36534 (83,7)
Population mit auswertbarer Wirksamkeit (7 Tage) ausgeschlossen sind Probanden, die von der	1790 (8.2)	1584 (7,3)	3374 (7,7)
Population mit auswertbarer Wirksamkeit (14 Tage) ausgeschlossen sind Grund für den	1790 (8.2)	1585 (7,3)	3375 (7,7)
Ausschlussc			
Randomisiert, erfüllte jedoch nicht alle Zulassungskriterien. Es wurde	36 (0,2)	26 (0,1)	62 (0,1)
keine Einverständniserklärung abgegeben	1 (0,0)	0	1 (0,0)
Hat nicht alle Impfungen wie randomisiert erhalten oder nicht Dosis 2 erhalten innerhalb des vordefinierten Fensters (19–42 Tage nach Dosis 1)	1550 (7.1)	1561 (7.2)	3111 (7.1)
Hatte am oder vor 7 Tagen nach Dosis 2 andere wichtige Protokollabweichungen	311 (1,4)	60 (0,3)	371 (0,8)
Hatte am oder vor 14 Tagen nach Dosis 2 andere wichtige Protokollabweichungen	311 (1,4)	61 (0,3)	372 (0,9)

Hinweis: HIV-positive Probanden sind in dieser Zusammenfassung enthalten, jedoch nicht in den Analysen der allgemeinen Studienziele. A. n = Anzahl der Probanden mit dem angegebenen Merkmal.

B. Diese Werte sind die Nenner für die Prozentberechnungen.

C. Probanden wurden möglicherweise aus mehr als einem Grund ausgeschlossen.

Ergebnisse und Schätzung

Primäre Wirksamkeitsendpunkte – Endgültige Analyse

Das Ergebnis der ersten primären Wirksamkeitsanalyse ist in Tabelle 5 dargestellt. Die VE gegen bestätigtes COVID-19, das mindestens 7 Tage nach Dosis 2 auftrat, betrug 95,0 %, mit 8 COVID-19-Fällen in der BNT162b2-Gruppe im Vergleich zu 162 COVID-19-Fällen in die Placebogruppe.

Die Impfstoffwirksamkeit von BNT162b2 für denselben primären Wirksamkeitsendpunkt, basierend auf der Population mit der verfügbaren Wirksamkeit von Dosis 2, betrug 95,2 %, mit 8 bzw. 165 Fällen in der BNT162b2- und der Placebogruppe.

Tisch 5 Wirksamkeit des Impfstoffs – Erstes Auftreten von COVID-19 7 Tage nach Dosis 2 – Probanden Ohne Anzeichen einer Infektion vor 7 Tagen nach Dosis 2 – Bewertbare Wirksamkeit (7 Tage) Population

	Impfstoffgruppe (wie randomisiert)						
	BNT162b2 (30 µg) (N^A=18198)		Placebo (N^A=18325)				
Wirksamkeitsendpunkt	$n1^B$	Überwachung Zeit^C($n2^D$)	$n1^B$	Überwachung Zeit^C($n2^D$)	VE (%)	(95 % CI^e)	Pr (VE >30 % | Daten)^F
Erstes Auftreten von COVID-19 7 Tage nach Dosis 2	8	2,214 (17411)	162	2,222 (17511)	95,0	(90,3, 97,6)	> 0,9999

Abkürzungen: N-Bindung = SARS-CoV-2-Nukleoprotein-Bindung; NAAT = Nukleinsäureamplifikationstest; SARS-CoV-2 =schweres akutes respiratorisches Syndrom Coronavirus 2; VE = Wirksamkeit des Impfstoffs.

Hinweis: Probanden, die keine serologischen oder virologischen Hinweise (vor 7 Tagen nach Erhalt der letzten Dosis) auf eine frühere SARS-CoV-2-Infektion hatten (d. h. N-bindender Antikörper [Serum] negativ bei Besuch 1 und SARS-CoV-2). wurden bei den Besuchen 1 und 2 nicht durch NAAT [Nasenabstrich] festgestellt) und hatten bei jedem außerplanmäßigen Besuch vor 7 Tagen nach Einbeziehung von Dosis 2 ein negatives NAAT (Nasenabstrich).

A. N = Anzahl der Probanden in der angegebenen Gruppe.

B. n1 = Anzahl der Probanden, die die Endpunktdefinition erfüllen.

C. Gesamtüberwachungszeit in 1000 Personenjahren für den angegebenen Endpunkt bei allen Probanden innerhalb jeder Gruppe, bei denen ein Risiko für den Endpunkt besteht. Der Zeitraum für die Erfassung von COVID-19-Fällen reicht von 7 Tagen nach Dosis 2 bis zum Ende des Überwachungszeitraums.

D. n2 = Anzahl der für den Endpunkt gefährdeten Probanden.

e. Das glaubwürdige Intervall für VE wurde mithilfe eines Beta-Binomialmodells berechnet, wobei das vorherige Beta (0,700102, 1) an die Überwachungszeit angepasst wurde. Weitere Einzelheiten finden Sie im statistischen Analyseplan, Anhang 2.

F. Die Posteriorwahrscheinlichkeit (Pr) wurde mithilfe eines Beta-Binomialmodells berechnet, wobei das vorherige Beta (0,700102, 1) an die Überwachungszeit angepasst wurde. Weitere Einzelheiten finden Sie im statistischen Analyseplan, Anhang 2

Für den zweiten primären Wirksamkeitsendpunkt wurde die VE für BNT162b2 gegen bestätigtes COVID-19 bei Teilnehmern mit oder ohne Anzeichen einer früheren SARS-CoV-2-Infektion bis 7 Tage nach Dosis 2 bewertet. Die Fälle wurden ab 7 Tagen nach Dosis 2 gezählt (Tabelle 6).). VE gegen bestätigtes COVID-19, das mindestens 7 Tage nach Dosis 2 auftrat, betrug 94,6 %, mit 9 bzw. 169 Fällen in der BNT162b2- bzw. Placebo-Gruppe.

Die Impfstoffwirksamkeit von BNT162b2 für denselben primären Wirksamkeitsendpunkt, basierend auf der Population mit der verfügbaren Wirksamkeit der Dosis 2, betrug 94,8 %, mit 9 bzw. 172 Fällen in der BNT162b2- bzw. Placebogruppe.